



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA

*Junia Carolina Linhares Ferrari*

The background of the central section is a photograph of a hamster's mouth, showing its teeth and tongue. A bright yellow laser beam is visible, shining from the bottom center of the frame upwards towards the hamster's mouth. The text is overlaid on this image.

**EFEITO DO LASER TERAPÊUTICO NA  
MUCOSITE INDUZIDA POR  
5-FLUORURACILA (5-FU) EM HAMSTERS**

Araraquara  
2005

JUNIA CAROLINA LINHARES FERRARI

**EFEITO DO LASER TERAPÊUTICO NA MUCOSITE  
INDUZIDA POR 5-FLUORURACILA (5-FU) EM HAMSTERS**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Odontológicas - Área de  
Odontopediatria, da Faculdade de  
Odontologia de Araraquara - UNESP,  
para obtenção do título de Mestre.

*Orientador:*

**Prof. Dr. Fabio Cesar Braga de Abreu-e-Lima**

*Co-orientador:*

**Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa**

Araraquara

2005

Ferrari, Junia Carolina Linhares

Efeito do laser terapêutico na mucosite induzida por  
5-fluoruracila (5-FU) em hamsters / Junia Carolina Linhares  
Ferrari . Araraquara : [s.n.], 2005.  
139 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia.

Orientador : Prof. Dr. Fabio César Braga de Abreu-e-Lima

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

1. Terapia a laser de baixa intensidade 2. Mucosa bucal  
3. Fluoruracila 4. Hamsters 5. Neoplasias. 6. Laser terapêutico  
I. Título

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA

**Junia Carolina Linhares Ferrari**

**EFEITO DO LASER TERAPÊUTICO NA MUCOSITE  
INDUZIDA POR 5-FLUORURACILA (5-FU) EM HAMSTERS**

COMISSÃO EXAMINADORA  
DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE

**Presidente:** Prof. Dr. Fabio Cesar Braga de Abreu-e-Lima

**2º Examinador:** Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato

**3º Examinador:** Profa. Dra. Luciana Almeida-Lopes

Araraquara  
2005

## Dados Curriculares

### **Junia Carolina Linhares Ferrari**

|            |                                                                                                                                                              |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NASCIMENTO | 16 de agosto de 1979 – São Paulo/SP                                                                                                                          |
| FILIAÇÃO   | Sidney Ferrari dos Santos<br>Carmen Linhares dos Santos                                                                                                      |
| 1997/2001  | Curso de Graduação em Odontologia<br>Faculdade de Odontologia de Araraquara– UNESP                                                                           |
| 2002       | Estágio de Atualização na Disciplina de Odontopediatria<br>da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP                                                 |
| 2003/2004  | Curso de Pós-graduação em Ciências Odontológicas,<br>Área de Concentração Odontopediatria, Nível Mestrado,<br>Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP |

# Dedicatória

---

Aos meus pais, **Carmen** e **Sidney**

Agradeço a vocês todo o amor e dedicação, os valores ensinados, o incentivo e os esforços feitos para que eu chegasse até aqui.

Amo muito vocês!

Ao meu irmão, **Fabio**

Pelos momentos de alegria e amizade e por saber que sempre poderei contar com você!

Ao **Thiago**

Apesar da distância, está presente em todos os momentos da minha vida, me dando amor, carinho e incentivo.

# Agradecimentos especiais

---

Ao **Prof. Dr. Fabio Cesar Braga de Abreu-e-Lima**

Agradeço pela orientação, pelos conhecimentos transmitidos, pela confiança em mim depositada e por sua presença sempre tranqüila e amiga.

Ao **Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa**

Por sua valiosa contribuição na realização deste trabalho, sempre presente e atencioso. Durante esse período de convivência, tive os melhores exemplos do que é a dedicação à pesquisa.

# Agradecimentos

---

Aos Professores da Disciplina de Odontopediatria **Josimeri Hebling, Elisa Maria Aparecida Giro, Lourdes Aparecida dos Santos-Pinto, Ângela Cristina Cilense Zuanon, Cyneu Aguiar Pansani, Rita de Cássia Loiola Cordeiro**, pelos ensinamentos e pela convivência sempre agradável.

À **Prof<sup>a</sup> Dra. Lourdes Aparecida dos Santos-Pinto** pela oportunidade dada para a realização de diferentes trabalhos de pesquisa durante o meu curso de mestrado.

À **Prof<sup>a</sup> Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato** pelo interesse e disponibilidade, sempre dedicada e disposta a ajudar.

À **Nancy Tomoko Sacono** pela ajuda na realização deste trabalho, com responsabilidade e paciência. Muito obrigada por me fazer companhia no Biotério desta Faculdade durante tantas noites e finais de semana!

À minha amiga **Fernanda Geraldес Pappen**. Obrigada por sempre estar ao meu lado, pela ajuda e incentivo durante o mestrado. Você sempre será como uma irmã para mim!

Às amigas **Cristiane Motisuki** pelo incentivo e pela amizade, tão recente, mas tão importante e verdadeira e **Mariane Emi**

**Sanabe**, amiga fiel há sete anos! Espero que essas amizades durem para sempre.

Aos amigos do curso de mestrado, **Fabíola, Jonas, Pedro, Hermes, Fábio, Murilo e Érika**, pelos momentos de dificuldade e alegria compartilhados. Com saudosa lembrança do amigo **Thiago de Mello Menezes** (In Memoriam)

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação, **Luciana, Ticiane, Paula, Andreza, Cristiane Duque, Renata, Célia e Michele**.

Às amigas **Cristina Takeushi e Patrícia Fernandes Motta** pelos momentos compartilhados durante o curso de mestrado.

À **Maria da Glória Vieira**, pela preciosa ajuda durante a realização da parte histopatológica deste trabalho. Agradeço pelos ensinamentos e pela convivência diária.

À **Andréia Cristina Celli** pela participação na realização dos procedimentos histopatológicos, sempre presente e disposta a ajudar.

À **Maria do Carmo Clemente da Cruz** (In Memoriam) pelo breve, mas agradável convívio e pela grande ajuda na parte experimental deste trabalho.

A todos os funcionários do Departamento de Clínica Infantil, da seção de Pós-graduação e da Biblioteca.

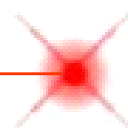
À Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, nas pessoas da Diretora **Prof<sup>a</sup> Dra. Rosimary Adriana Chiérnici Marcantonio** e vice-diretor **Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla**.

## Sumário

|     |                                                                                          |    |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1   | Introdução .....                                                                         | 12 |
| 2   | Revisão da literatura.....                                                               | 19 |
| 2.1 | Desenvolvimento da mucosite e seu tratamento .....                                       | 19 |
| 2.2 | Utilização de laser terapêutico para redução da incidência e severidade da mucosite..... | 34 |
| 2.3 | Mecanismo de ação do laser .....                                                         | 41 |
| 3   | Proposição.....                                                                          | 64 |
| 4   | Material e método .....                                                                  | 66 |
| 4.1 | Procedimentos operatórios.....                                                           | 66 |
| 4.2 | Avaliação clínica da mucosite.....                                                       | 73 |
| 4.3 | Avaliação histopatológica da mucosite .....                                              | 75 |
| 4.4 | Resumo dos procedimentos .....                                                           | 77 |
| 4.5 | Análise estatística dos resultados .....                                                 | 77 |
| 5   | Resultado.....                                                                           | 80 |
| 5.1 | Avaliação clínica da mucosite.....                                                       | 80 |

|     |                                             |     |
|-----|---------------------------------------------|-----|
| 5.2 | Avaliação histopatológica da mucosite ..... | 95  |
| 6   | Discussão .....                             | 104 |
| 7   | Conclusão .....                             | 113 |
| 8   | Referências.....                            | 115 |
|     | Anexo.....                                  | 130 |
|     | Resumo.....                                 | 136 |
|     | Abstract.....                               | 138 |

# Introdução



## 1 Introdução

As doenças neoplásicas malignas ainda representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade, sendo preocupante a alta incidência dessas alterações. Entretanto, a evolução da medicina e o conhecimento da biologia do câncer têm trazido grandes benefícios para o controle da doença (SONIS et al.<sup>68</sup>,1998; TROTTI et al.<sup>87</sup>, 2003).

O crescente sucesso dos tratamentos antineoplásicos pode ser atribuído ao uso de terapias imunossupressoras, como a quimioterapia, e à combinação de agentes quimioterápicos com intensificação das doses utilizadas. No entanto, a toxicidade provocada por esses medicamentos ainda representa um problema clínico significativo, pois interfere no equilíbrio psicossomático e na qualidade de vida dos pacientes (BENSADOUN et al.<sup>6</sup>, 2001; CHENG<sup>10</sup>, 2001; DODD et al.<sup>19</sup>, 2001).

A cavidade oral é alvo freqüente dos efeitos tóxicos dos agentes antineoplásicos por apresentar tecidos com rápida divisão celular, comparável à dos tumores malignos. As drogas usadas não apresentam ação específica sobre as células cancerosas e, por não as diferenciar das células normais, em rápida divisão, são lesivas a ambas (GUGGENHEIMER et al.<sup>32</sup>, 1997; McGUIRE<sup>51</sup>, 2002).

Uma das complicações orais mais freqüentes e problemáticas da quimioterapia é a mucosite, uma alteração de caráter

inflamatório que provoca adelgaçamento e ulceração da mucosa oral (SPIJKERVET e SONIS<sup>82</sup>, 1998; EPSTEIN et al.<sup>27</sup>, 2002).

Clinicamente, a mucosite é caracterizada por lesões eritematosas e/ou ulceradas, que podem ser detectadas poucos dias após o início da quimioterapia e recuperam-se espontaneamente em duas ou três semanas, se não houver complicações infecciosas (CARL<sup>9</sup>, 1984; DODD<sup>19</sup> et al., 1996; EPSTEIN e SCHUBERT<sup>26</sup>, 1999; RUTKAUSKAS e DAVIS<sup>63</sup>, 1993), complicações estas que podem facilitar o desenvolvimento de septcemias.

Qualquer região da boca pode ser afetada, embora haja maior incidência nas superfícies não-queratinizadas como as mucosas jugal e labial, o assoalho da boca, o ventre da língua e o palato mole (EPSTEIN e SCHUBERT<sup>26</sup>, 1999; PARULEKAR et al.<sup>57</sup>, 1998; WOO et al.<sup>91</sup>, 1993).

Durante o período em que se manifesta, a mucosite provoca desconforto, dor severa e dificulta a manutenção da higiene oral, além de restringir a ingestão de líquidos, de alimentos e afetar a comunicação e o sono (CHENG<sup>10</sup>, 2001; DONNELLY et al.<sup>22</sup>, 2003)

Pacientes que desenvolvem mucosite podem, freqüentemente, necessitar de cuidados especiais como nutrição via parenteral, analgesia com narcóticos, modificação do protocolo de tratamento com alteração da dose ou até interrupção da quimioterapia,

comprometendo assim o controle do câncer (SONIS<sup>68</sup>, 1998; SPIJKERVET e SONIS<sup>82</sup>, 1998).

A frequência e a severidade dessa condição debilitante dependem de diversos fatores associados ao paciente e à terapia antineoplásica. Existem variáveis importantes que aumentam a susceptibilidade do paciente a esta alteração, como o tipo de neoplasia, a droga usada, sua dose e o regime quimioterápico, a extensão da mielossupressão, além da idade do paciente, seu estado nutricional, os cuidados com a higiene oral e os traumas da mucosa (CHENG et al.<sup>11</sup>, 2002; EPSTEIN e SCHUBERT<sup>26</sup>, 1999; KNOX et al.<sup>43</sup>, 2000; DUNCAN e GRANT<sup>23</sup>, 2003).

O tratamento da mucosite já estabelecida é paliativo e inclui analgésicos tópicos e sistêmicos, suporte nutricional e cuidados com a higiene oral para evitar infecções secundárias (SONIS et al.<sup>74</sup>, 1995). Entretanto, não existem terapias padronizadas e bem definidas, não havendo consenso sobre a melhor maneira de lidar com essa condição (DONNELLY et al.<sup>22</sup>, 2003; MORVAN et al.<sup>54</sup>, 2004; KWONG<sup>47</sup>, 2004; CHENG et al.<sup>11</sup>, 2004; SPIJKERVET e SONIS<sup>82</sup>, 1998). Este fato pode estar relacionado à complexidade que caracteriza o desenvolvimento da mucosite, às diversas mudanças que ocorrem nos tecidos epitelial e conjuntivo e ao estado hematológico do indivíduo.

Os fatores que desencadeiam o desenvolvimento da mucosite ainda estão sendo estudados (SONIS et al.<sup>80</sup>, 2004). Sonis<sup>68</sup>,

em 1998, definiu a mucosite como um processo biológico complexo, caracterizado por uma série de eventos mediados por citocinas, pelo efeito direto do agente quimioterápico no epitélio, pela microbiota oral e pelas condições da medula óssea do paciente.

O entendimento da fisiopatologia da mucosite e de seus aspectos moleculares vem promovendo a investigação de diversos agentes com ação específica no epitélio da mucosa oral, como a interleucina-11 (IL-11), o fator de transformação de crescimento- $\beta$ 3 (TGF- $\beta$ 3), o fator de crescimento keratinocítico (Palifermina) e o fator estimulante de colônia de granulócito (G-CFS) e de granulócito-macrófago (GM-CSF), dentre outros (CLARKE et al.<sup>14</sup>, 2002; SONIS et al.<sup>70</sup>, 1992; SONIS et al.<sup>72</sup>, 1994; SONIS et al.<sup>74</sup>, 1995; SONIS et al.<sup>75</sup>, 1997; SONIS et al.<sup>76</sup>, HEJNA et al.<sup>35</sup>, 2001; SPIELBERGER, et al.<sup>81</sup>, 2004).

Existem ainda diversas modalidades de tratamento sendo avaliadas e empregadas: clorexidina, vitaminas, agentes protetores como o sucralfato e o leite de magnésia, bochechos com soluções salinas, soluções de bicarbonato de sódio e sucção de cubos de gelo, também conhecida como crioterapia (BARASCH e PETERSON<sup>4</sup>, 2003; CLARKSON et al.<sup>15</sup>, 2000; DODD et al.<sup>20</sup>, 2000; KNOX et al.<sup>43</sup>, 2000). Porém, são poucos os estudos controlados e muitas intervenções terapêuticas não apresentam resultados consistentes (DODD et al.<sup>19</sup>, 1996; EPSTEIN e SCHUBERT<sup>26</sup>, 1999; KWONG<sup>47</sup>, 2004; SPIJKERVET e SONIS<sup>82</sup>, 1998). Conseqüentemente, a utilização de meios eficazes que

possibilitem a prevenção e/ou redução dessa condição torna-se extremamente importante.

A utilização do laser de baixa intensidade para o tratamento da mucosite vem demonstrando resultados promissores e embora seja uma opção terapêutica ainda pouco estudada, existem evidências sobre seu benefício na redução da severidade das lesões que acometem a cavidade oral durante a quimioterapia (BARASCH et al.<sup>5</sup>, 1995; BENSADOUN et al.<sup>7</sup>, 1999; COWEN et al.<sup>18</sup>, 1997; EDUARDO et al.<sup>25</sup>, 2004; HAMME et al.<sup>89</sup>, 2003; MIGLIORATI et al.<sup>53</sup>, 2001; POURREAU-SCHNEIDER et al.<sup>60</sup>, 1992).

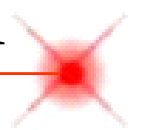
Segundo Eduardo et al.<sup>24</sup> (2002), o uso da luz laser de baixa intensidade promove a bioestimulação dos tecidos vivos, produzindo uma resposta fisiológica caracterizada pelo aumento da atividade funcional das células. A capacidade de modular a resposta celular ante uma situação de inflamação instalada resulta em efeitos clínicos importantes, como aceleração da cicatrização e supressão da dor (ABT<sup>1</sup>, 1995; BENSADOUN e CIAIS<sup>6</sup>, 2002).

O mecanismo de ação dessa modalidade terapêutica ainda não está completamente elucidado e parece estar relacionado à ativação da produção de energia pelas mitocôndrias (ATP), sendo influenciado por algumas variáveis como o tipo de tecido alvo, o comprimento de onda do aparelho e a dose utilizada (KARU<sup>38</sup>, 1989;

HARRIS<sup>34</sup>, 1991; KARU et al.<sup>39</sup>,1995; CONLAN et al.<sup>16</sup>, 1996; KARU<sup>40</sup>,1999; KARU<sup>41</sup>, 2003).

O pequeno número de estudos avaliando a ação do laser terapêutico na redução da incidência e da severidade da mucosite oral e a existência de inúmeras pesquisas *in vitro* e *in vivo* demonstrando os efeitos benéficos da laserterapia na cicatrização de feridas de diversas origens e na modulação do processo inflamatório representam um estímulo para a investigação do efeito desta modalidade terapêutica no reparo da mucosite oral. Diante disso, a realização de estudos em animais de laboratório previamente à de estudos em humanos busca esclarecer o papel da laserterapia no processo de desenvolvimento dessa alteração oral tão debilitante.

Revisão da literatura



## **2 Revisão da literatura**

### **2.1 Desenvolvimento da mucosite e seu tratamento**

Carl<sup>9</sup>, em 1984, fez considerações sobre a realização de transplantes de medula óssea durante o tratamento de diversos tipos de neoplasias malignas e o desenvolvimento de complicações orais. A imunossupressão causada por este tratamento associada às altas doses de radioterapia e quimioterapia predispõe o paciente a diversas alterações sistêmicas e orais, dentre elas a mucosite. O autor sugere uma série de medidas que visam o controle das complicações orais, incluindo avaliação dental completa previamente ao início do tratamento antineoplásico. Aparelhos fixos devem ser removidos, cáries e doença periodontal devem ser tratadas, dentes com prognóstico duvidoso e terceiros molares impactados devem ser extraídos, instruções de higiene oral devem ser dadas e boa higiene oral mantida pelo paciente, contribuindo assim para controle bacteriano. Iniciado o tratamento, cuidados com a saúde oral devem ser mantidos, havendo acompanhamento de profissionais que indicarão bochechos antissépticos, soluções que mantenham a mucosa lubrificada, aliviem a xerostomia e acidez salivar. Profilaxia contra candidose também é indicada. O autor ressalta a possibilidade de ocorrerem alterações orais mesmo com todos os cuidados acima listados, sendo a mucosite uma complicação séria e dolorosa que pode afetar a qualidade de vida do paciente.

Sonis et al.<sup>69</sup>, em 1990, descreveram um modelo animal para indução de mucosite, reproduzindo as condições encontradas em humanos. Foram usados 20 hamsters Sírios Dourados com peso entre 91 e 100 g e 2 meses de idade, sendo aplicada injeção intraperitoneal de 5-Fluoruracila (5-FU) na dose de 60 mg/Kg nos dias 0, 5 e 10. Tal dose e frequência de aplicação demonstraram produzir mucosite com mínima morbidade e mortalidade em estudo piloto prévio. Para reproduzir o efeito de uma irritação crônica, a mucosa jugal foi arranhada superficialmente com uma agulha durante um, dois ou três dias. Um grupo de 4 animais serviu como controle, recebendo apenas irritação superficial da mucosa, feita durante três dias. Os animais foram pesados e observados diariamente, sendo a mucosa jugal evertida e fotografada, após anestesia. Dois animais do grupo que recebeu 5-FU foram sacrificados nos dias 0, 2, 5, 10, 12, 14, 16, realizando-se coleta de sangue e biópsia excisional da mucosa jugal. Notou-se eritema 3 dias após a exposição inicial ao 5-FU. No dia 5 (segunda injeção de 5-FU), observou-se mucosa eritematosa, com áreas localizadas de abscesso. Um animal apresentou ulceração franca. No dia 9 notou-se progressão da mucosite caracterizada por grandes áreas de perda de continuidade epitelial e necrose superficial. Os animais do grupo controle apresentaram apenas irritação da mucosa e formação de abscessos superficial havendo cura rápida dentro de 48 horas. Foi feita contagem de células brancas e observou-se pico de mielossupressão por volta do dia 10, caracterizada por profunda

leucopenia quando comparada com a contagem inicial de células brancas. Microscopicamente, observou-se epitélio paraqueratótico e áreas de degeneração hidrópica entre os dias 2 e 5 após as injeções iniciais de 5-FU. Os capilares apresentaram-se dilatados, contendo eritrócitos e infiltrado de linfócitos e macrófagos. Foi encontrada diferença significativa nas amostras dos hamsters sacrificados nos estágios mais tardios do experimento. No dia 14 puderam-se observar áreas de destruição epitelial caracterizadas por ulceração franca. Também foi observada presença de infecção caracterizada por colônias de microrganismos e epitélio necrótico separado do conjuntivo subjacente.

Para verificar a relação entre a alta taxa de renovação do epitélio oral e a susceptibilidade da mucosa aos efeitos tóxicos da quimioterapia, Sonis et al.<sup>70</sup>, em 1992, utilizaram o fator de crescimento epidermal, uma citocina capaz de estimular a proliferação de células epiteliais. Mucosite foi induzida em 60 hamsters por meio de injeção 5-FU na dose de 60 mg/kg de peso nos dias 0 e 5 e irritação da mucosa jugal no dia 7. O fator de crescimento epidermal foi aplicado topicamente no lado esquerdo através de um dispositivo de bombeamento implantado na mucosa jugal dos animais para dispensar doses uniformes por períodos prolongados. Observou-se mucosite mais severa nos animais que receberam a citocina em comparação aqueles que receberam placebo e houve relação entre a severidade da mucosite e a perda de peso. Os autores concluíram que a taxa de renovação celular é um fator

determinante para a susceptibilidade à mucosite e a presença do fator de crescimento epidermal modifica a frequência e o curso da mucosite. Os autores também sugeriram que um tratamento preventivo efetivo seria provocar a inibição ou redução da taxa de proliferação epitelial.

Rutkauskas e Davis<sup>63</sup>, em 1993, realizaram um estudo randomizado duplo-cego avaliando a eficácia da clorexidina como medida profilática na prevenção e redução de complicações orais em 13 pacientes que passaram por quimioterapia e transplante de medula óssea. Prescreveu-se bochecho com solução de digluconato de clorexidina a 0,12% ou uma solução controle sem clorexidina, duas vezes ao dia. Pacientes que receberam clorexidina mostraram menor incidência de mucosite e menos dor associada a ela, o que foi atribuído ao potencial dessa solução em diminuir a infecção secundária geralmente presente durante o tratamento antineoplásico.

Estudo realizado por Sonis et al.<sup>74</sup>, em 1995, investigou o papel da interleucina-11 (IL-11) na frequência, duração e severidade da mucosite induzida em hamsters. A IL-11 é uma citocina que possui funções relacionadas à estimulação da atividade medular, das plaquetas e do restabelecimento dos neutrófilos em terapias mielossupressivas. Os animais receberam injeção subcutânea de IL-11 recombinante humana diariamente durante os 15 dias do experimento. A mucosite foi induzida através de injeção intraperitoneal de 5-FU na dose de 60 mg/Kg nos dias 0 e 2 do experimento, sendo a mucosa dos animais irritada

superficialmente no dia 4. Os animais tratados com IL-11 apresentaram menor escore de mucosite, menor perda de peso e maior taxa de sobrevivência. Os autores avaliaram a estimulação da produção de plaquetas e não observaram diferença na atividade da medula óssea entre os grupos experimentais, o que sugere um mecanismo de ação da IL-11 no epitélio e tecido conjuntivo, ainda havendo necessidade de melhor estabelecer tal mecanismo de proteção da mucosa oral.

Dodd et al.<sup>19</sup> (1996) realizaram estudo controlado randomizado duplo cego para testar a efetividade de um programa de higiene oral combinado com administração de solução de clorexidina ou de um placebo (água esterilizada) na redução da incidência e severidade da mucosite induzida por quimioterapia. Participaram da pesquisa 222 pacientes que foram acompanhados durante 3 ciclos de quimioterapia, receberam instrução de higiene oral associada ao enxágue oral (clorexidina ou água) previamente ao desenvolvimento de mucosite. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos que utilizaram clorexidina ou placebo em relação à incidência, início e severidade da mucosite. Os autores discutem a importância do estabelecimento de um programa de higiene oral para a redução da severidade da mucosite.

Sonis et al.<sup>76</sup> (1997) examinaram o efeito da aplicação tópica de fatores de transformação do crescimento- $\beta 3$  (TGF- $\beta 3$ ) previamente à indução de mucosite em hamsters. Aplicou-se 5-FU (60 a

80 mg/Kg) intraperitonealmente nos dias 0 e 2 e arranhou-se a mucosa jugal com uma agulha descartável no dia 4 do experimento. Os TGF- $\beta$ 3 são reguladores negativos da inflamação e agem inibindo o crescimento de células epiteliais e hematopoiéticas. Os autores observaram redução da proliferação das células basais através de exame imunohistoquímico com PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*) e exame histológico. Fotografias foram tiradas diariamente a partir do dia 5 até o dia 16 e classificadas com uma escala de 0 a 10 para determinação do grau da mucosite. Os animais tratados com TGF- $\beta$ 3 apresentaram redução da severidade da mucosite, menor perda de peso e aumento da sobrevivência. Esses achados foram relacionados à redução da proliferação das células basais.

Sonis<sup>68</sup>, em 1998, elaborou uma hipótese para explicar os mecanismos pelos quais a mucosite se desenvolve e o seu processo de reparo, baseando-se em modelos experimentais em animais e dados clínicos. Segundo sua hipótese, a mucosite ocorre em quatro fases distintas. Inicialmente o agente antineoplásico provoca a liberação de citocinas inflamatórias pelo epitélio, como o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e as interleucinas 1 e 6 (IL-1, IL-6). O TNF- $\alpha$  é capaz de provocar danos teciduais, iniciando e acelerando o processo de mucosite. A IL-1 e IL-6 participam efetivamente da resposta inflamatória, que se inicia por meio do aumento da vascularização local e conseqüente elevação da concentração de agentes citotóxicos na mucosa. Durante a

segunda fase, ocorre redução no processo de renovação das camadas do epitélio causada pela ação não específica dos agentes quimioterápicos sobre as células do epitélio oral em rápida divisão. Uma vez que o tecido se torna atrófico e sua renovação é inibida, traumas funcionais levam ao surgimento de ulcerações. Áreas com eritema podem ser vistas freqüentemente e representam uma combinação da vascularização aumentada com a redução da espessura do epitélio. Essa fase inicia-se em 4 ou 5 dias após a administração do medicamento. A terceira fase é a bastante sintomática e tem grande impacto no bem-estar do paciente. Surge aproximadamente uma semana após a administração do agente quimioterápico e caracteriza-se por áreas erosivas que podem ser cobertas por uma pseudomembrana fibrinosa e colonizadas por microrganismos. A fase final da mucosite está associada ao reparo tecidual, caracterizada pela proliferação e diferenciação celular, normalização da contagem de células brancas e restabelecimento da microbiota oral, que ocorre espontaneamente em 2 ou 3 semanas após o término da quimioterapia.

Segundo Spijkervet e Sonis<sup>82</sup> (1998), mucosite oral é uma alteração inflamatória da mucosa, sendo decorrente de quimioterapia e radioterapia. As ulcerações induzidas pelo efeito citotóxico dos agentes quimioterápicos ou pela radioterapia provocam dor, dificultam a nutrição do paciente e facilitam o desenvolvimento de infecções secundárias e septicemia, principalmente nos pacientes com neutropenia. A freqüência e

a severidade dessa condição irão depender de diversos fatores como o tipo de terapia antineoplásica, diagnóstico do paciente, idade e cuidados com higiene oral. Os autores citam alguns agentes utilizados para amenizar as alterações orais como antimicrobianos, citocinas, vitaminas, mediadores da inflamação, enxaguatórios orais, crioterapia e laserterapia, porém, ressaltam que não existem tratamentos padronizados e bem definidos para a mucosite e algumas intervenções terapêuticas não apresentam resultados consistentes, sendo que este fato pode estar relacionado à complexidade biológica que caracteriza o desenvolvimento da mucosite, incluindo diversas mudanças que ocorrem no tecido epitelial e conjuntivo e a relação presente com o estado hematológico do hospedeiro. Os autores citam ainda estudos experimentais com o fator de TGF- $\beta$ 3, agente que reduz temporariamente a taxa de proliferação das células basais da mucosa oral, podendo representar um tratamento preventivo efetivo e seguro para pacientes que são submetidos à quimioterapia.

Clarke et al.<sup>13</sup>, em 1999, avaliaram a capacidade da lactoferrina bovina (proteína ativa do leite com propriedade antimicrobiana e capacidade de mediar a resposta inflamatória) em reduzir a severidade da mucosite oral induzida por quimioterapia em hamsters. O agente quimioterápico administrado aos animais (5-FU) provocou leucopenia severa entre os dias 4 e 7, sendo este também o período de pico de mucosite. A lactoferrina bovina foi aplicada diariamente e falhou em

reduzir a severidade das úlceras, sendo ainda observada uma redução no processo de cura das lesões quando se comparou ao grupo controle.

Clarkson et al.<sup>15</sup>, em 2000, realizaram uma revisão sistemática para avaliar a efetividade de agentes profiláticos usados para tratar a mucosite oral em pacientes com câncer e recebendo quimioterapia. Os autores pesquisaram os estudos randomizados existentes em bases de dados, no período de 1966 a 1999, sendo selecionados 14 estudos que avaliaram o uso de clorexidina, gelo, prostaglandina, glutamina, sucralfato, camomila, alopurinol e fator estimulante de colônia de granulócito. Dentre estes agentes, apenas o uso de gelo foi eficiente para prevenir a mucosite oral, não havendo evidência do benefício promovido pelos outros agentes.

Estudo clínico realizado por Dodd et al.<sup>20</sup>, em 2000, testou a ação de 3 soluções de bochecho no controle da mucosite induzida por quimioterapia. A amostra foi composta por 202 pacientes que foram divididos aleatoriamente em 3 grupos e receberam bochecho de solução de digluconato de clorexidina a 0,12%, solução “mágica” composta por lidocaína, Benadryl e hidróxido de alumínio ou solução salina associada a bicarbonato de sódio. Todos os pacientes seguiram ainda um programa de higiene oral. Os autores não encontraram diferenças significativas no tempo de resolução da mucosite e nos seus sinais e sintomas entre os 3 grupos avaliados. O escore médio para dor também não variou entre os pacientes dos 3 grupos, o que foi inesperado já que a solução “mágica”

continha lidocaína. Observou-se redução na severidade da mucosite, que foi atribuída ao programa de manutenção da higiene oral e não aos bochechos utilizados.

Sonis et al.<sup>78</sup>, em 2000, realizaram estudo para avaliar e definir os mecanismos pelos quais a IL-11 atenua a mucosite induzida por radioterapia. Esta citocina apresenta uma série de atividades biológicas que aparentam ter impacto positivo sobre a mucosite, como modulação da inflamação, da proliferação e diferenciação celular, proteção do tecido conjuntivo e inibição da apoptose. Determinaram-se os níveis de citocinas pró-inflamatórias, apoptose e alterações morfológicas da mucosa oral de 30 hamsters que tiveram a mucosa jugal esquerda irradiada com única dose de radiação. Os animais foram divididos em dois grupos. A IL-11 foi administrada diariamente por meio de injeção subcutânea no grupo tratado. O grau da mucosite induzida foi classificado com uma escala de 6 pontos. Amostras do tecido da mucosa jugal foram obtidas para análise imunohistoquímica e realização de PCR. Observou-se o surgimento de alterações orais no grupo controle por volta do dia 12, tendo seu pico no dia 15. O grupo que recebeu tratamento apresentou menos mucosite no mesmo período. Neste estudo, a IL-11 não foi capaz de inibir a apoptose nas células epiteliais. Os resultados sugerem que a IL-11 modula favoravelmente a mucosite por atenuar a expressão das citocinas pró-inflamatórias que são ativadas pela radiação e também por

ajudar a manter a integridade epitelial, mantendo a função e diferenciação das células da mucosa jugal e produção de queratina.

Cheng et al.<sup>10</sup> (2001) realizaram estudo comparativo prospectivo para determinar a efetividade de um protocolo preventivo que incluiu cuidados de higiene oral para reduzir a mucosite induzida por quimioterapia. Participaram da pesquisa 42 crianças apresentando tumores sólidos e malignidades hematológicas, sendo divididas em 2 grupos iguais e acompanhadas por período de 4 meses. O protocolo consistiu de escovação, prescrição de bochecho com clorexidina 0,12% e solução salina 0,9%. As variáveis estudadas foram: incidência de lesões ulcerosas, severidade da mucosite e relato de dor. Encontrou-se redução de 38% na incidência de mucosite no grupo de crianças que recebeu o protocolo de cuidados orais, havendo também redução na severidade da mucosite e da dor associada.

Em 2001, Squier e Kremer<sup>83</sup> fizeram considerações importantes sobre a biologia da cavidade oral e sua susceptibilidade aos agentes quimioterápicos e à radioterapia. Os autores definem o epitélio oral como uma barreira protetora aos tecidos subjacentes contra traumas mecânicos, materiais tóxicos e microrganismos. O epitélio é constantemente substituído e o tempo de substituição para todas as células varia entre 4 e 34 dias. A taxa de divisão celular é maior nas superfícies orais não queratinizadas quando comparada às superfícies queratinizadas e essas diferenças têm implicações importantes no

processo de reparo dos tecidos, principalmente quando se consideram os efeitos da terapia antineoplásica na cavidade oral. A quimioterapia e a radioterapia representam um desafio à integridade da mucosa oral, uma vez que limitam a proliferação das células epiteliais e assim, o epitélio torna-se fino e ulcerado. As lesões que se desenvolvem principalmente na língua, palato mole e bochechas provocam dor e disfagia, comprometendo a qualidade de vida do paciente. As alterações provocadas no tecido epitelial e conjuntivo subjacente diminuem o potencial de reparo da região e facilitam a infecção secundária. O conhecimento da biologia dos tecidos orais e o desenvolvimento de agentes com ação direta nesses tecidos representam perspectivas promissoras para o tratamento das alterações orais decorrentes do tratamento antineoplásico.

Fatores biologicamente ativos de leite bovino (WGFE-A) foram utilizados em estudo realizado por Clarke et al.<sup>14</sup>, em 2002, como forma de prevenir ou tratar mucosite oral induzida em hamsters por meio de combinação do quimioterápico 5-fluorouracil administrado nos dias 0 e 2, nas doses de 90mg/Kg e 60 mg/Kg, respectivamente, e irritação da mucosa jugal dos animais nos dias 1 e 2. WGFE-A foi administrado topicamente na mucosa oral antes e durante a terapia com 5-FU resultando na redução da severidade da mucosite. Quando o agente WGFE-A foi administrado continuamente após a indução da mucosite, falhou na redução da ulceração presente. Os autores também

encontraram 21% de redução da taxa de proliferação de células epiteliais pré-expostas ao WGFE-A, o que explica seu efeito protetor, já que os quimioterápicos atingem as células que estão em rápida multiplicação. Os autores acreditam que a ação dos diversos componentes do WGFE-A administrados em um protocolo profilático é responsável pela proteção da mucosa oral contra os efeitos adversos provenientes da quimioterapia, tendo ação antimicrobiana, antiproliferativa e antiapoptose.

Costa et al.<sup>17</sup>, em 2003, realizaram estudo para verificar a eficácia de um protocolo oral em crianças com leucemia linfoblástica aguda (LLA) que receberam tratamento antineoplásico. Um grupo de 7 crianças recebeu cuidados de higiene oral e bochecho com solução de clorexidina a 0,12% diariamente, a partir do dia anterior ao início da quimioterapia. O grupo controle, composto por 7 crianças, recebeu apenas cuidados de higiene oral, sendo administrado um placebo como enxagüatório oral. Compararam-se os dois grupos no que diz respeito ao surgimento de lesões orais e observou-se uma diminuição significativa na incidência de mucosite e ulceração nas crianças que fizeram bochecho profilático com clorexidina. Apenas 14,3 % das crianças que usaram clorexidina desenvolveram mucosite oral contra 71,4% do grupo controle. Os autores concluíram que existe a necessidade da aplicação sistemática de um protocolo que reduza a incidência de complicações orais em crianças submetidas à quimioterapia.

Um biopolímero (RG1503) com propriedades regenerativas e antiinflamatórias, desenvolvido para mimetizar os efeitos protetores do heparan-sulfato, foi utilizado por Morvan et al.<sup>54</sup>, em 2004, com o objetivo de prevenir o desenvolvimento de mucosite induzida por quimioterapia em modelo animal. Neste estudo, foram utilizados 45 hamsters distribuídos em 3 grupos: controle (não-tratado com RG 1503); Placebo (tratado com injeção de solução salina); experimental (tratado com RG 1503 administrado nos dias 4 e 12 através de injeção intramuscular de 1,5 mg/Kg de peso). A mucosite foi induzida através de injeção intraperitoneal de 5-fluoruracila, na dose de 60 mg/Kg de peso, nos dias 0, 5 e 10. Nos dias 1, 2 e 3 ambas as mucosa jugais dos animais foram escarificadas com uma fresa montada em baixa rotação (3 escarificações paralelas de 1 cm cada). No dia 15 do experimento, as mucosas foram fotografadas para avaliação clínica da área das lesões desenvolvidas e posteriormente removidas e processadas para avaliação histopatológica e imunohistoquímica. Os autores não observaram diferenças entre a redução do peso corporal e contagem de células sanguíneas entre os grupos. Os animais que não receberam RG 1503 desenvolveram mucosite severa e o exame histopatológico revelou destruição da membrana basal, alterações no epitélio, no tecido conjuntivo subjacente e nas fibras musculares. Apenas metade dos animais tratados desenvolveu mucosite, sendo as úlceras formadas 70% menores e a membrana basal preservada neste grupo. Concluiu-se que o

biopolímero RG1503 foi efetivo para prevenir e reduzir a mucosite induzida no modelo animal utilizado.

Spielberger et al.<sup>81</sup>, em 2004, avaliaram a eficácia da Palifermina (Fator de crescimento keratinocítico recombinante humano), um medicamento com a propriedade de estimular a proliferação de células epiteliais da mucosa oral, na redução da duração e da severidade da mucosite oral e suas seqüelas (infecções, necessidade de analgésicos opióides e nutrição parenteral), em estudo clínico controlado randomizado duplo-cego em pacientes adultos com câncer hematológico submetidos a transplante de células-tronco, irradiação corpórea total e quimioterapia. A Palifermina foi administrada intravenosamente em 106 pacientes, na dose de 60 mg/Kg durante 6 dias. Outros 106 pacientes receberam placebo. Classificou-se a mucosite desenvolvida pelos pacientes por meio de 3 escalas distintas. A análise dos resultados revelou que a incidência de mucosite grau 3 e 4, a forma mais debilitante de complicações orais segundo a escala da Organização Mundial de Saúde (WHO), foi de 63% no grupo que recebeu Palifermina e de 98% no grupo que recebeu placebo. O grupo tratado também apresentou menor duração da mucosite, menor uso de analgésicos opióides e de nutrição parenteral. Neste estudo avaliou-se ainda a segurança do emprego deste novo medicamento e observou-se que a incidência e freqüência de efeitos adversos foram similares em ambos os grupos, sendo a maioria desses efeitos atribuída à toxicidade inerente à radioterapia e quimioterapia. Os

autores concluíram que a Palifermina foi capaz de reduzir a incidência e a severidade da mucosite oral em pacientes recebendo irradiação corpórea total e altas doses de quimioterapia.

## **2.2 Utilização de laser terapêutico para redução da incidência e severidade da mucosite**

Estudo restropectivo realizado por Pourreau-Schneider et al.<sup>60</sup>, em 1992, teve como objetivo verificar a ação do laser de baixa intensidade de Hélio-Neônio (He-Ne) (25 mW e 632,8 nm) no combate à mucosite provocada por tratamento antineoplásico. Os pacientes incluídos no estudo apresentavam diagnóstico similar e receberam regime quimioterápico idêntico. A amostra foi dividida em 3 grupos, sendo o grupo 1 composto por 20 pacientes que não receberam laserterapia, o grupo 2 composto por 16 pacientes que receberam tratamento curativo com laser após o aparecimento da lesões e o grupo 3 composto por 23 pacientes que receberam tratamento preventivo com laser (antes e durante a quimioterapia). O regime quimioterápico incluiu o uso de 5-FU por 5 dias através de infusão intravenosa contínua associado a quimioterápicos como cisplatina, doxorrubicina e ciclofosfamida, entre outros. Para classificar a mucosite, utilizou-se uma graduação baseada na Organização Mundial de Saúde, sendo grau 0 (normal), grau I (eritema leve), grau II (mucosite moderada, com erosão leve), grau III (mucosite moderada a severa com ulcerações múltiplas ou eritema generalizado) e grau IV (mucosite severa,

ulcerações múltiplas, disfagia e impossibilidade de nutrição por via oral). Houve incidência de mucosite em 43% dos 51 ciclos de quimioterapia realizados no grupo 1, que não recebeu aplicação de laser. Houve diminuição no tempo de reparo de lesões grau IV no grupo II, sendo este tempo de 19,3 dias (grupo controle) e 8,1 dias (grupo II). De um total de 95 ciclos de quimioterapia realizados no grupo 3, em 94% não houve complicações orais. Observou-se ainda graus baixos de mucosite e reparo mais rápido das lesões, não havendo necessidade de alterar o regime quimioterápico desse grupo.

Barasch et al.<sup>4</sup>, em 1995, investigaram o uso do laser Hélio-Neônio para prevenir a mucosite induzida por terapias condicionantes em pacientes que receberam transplante de medula óssea. Neste estudo controlado, prospectivo e duplo cego, 20 pacientes receberam aplicação unilateral de laser na cavidade oral durante 5 dias consecutivos, a partir do dia -1, sendo o transplante de medula óssea realizado no dia 0. A região contralateral recebeu apenas placebo, representando o controle. Utilizou-se um aparelho com comprimento de onda emitindo em 632,8 nm, 25 mW de potência, sendo 5 regiões da cavidade oral irradiadas por 40 segundos, com densidade de energia de 1,0 J/cm<sup>2</sup>. A severidade da mucosite e da dor associada foi menor no lado tratado com laser. Lesões ulceradas foram encontradas em todos os pacientes, bilateralmente. As regiões mais afetadas foram o assoalho da boca, seguido pela região lateral da

língua, mucosa jugal, ventre da língua, lábio e palato. A severidade da mucosite aumentou a partir do dia + 6 e essa complicação se resolveu por volta do dia +21. Os autores concluíram que o tratamento preventivo com laser foi bem tolerado pelos pacientes e reduziu a severidade da mucosite induzida pela quimioterapia, embora não tenha reduzido sua incidência.

Em 1997, Cowen et al.<sup>18</sup> avaliaram a eficiência do uso do laser de baixa intensidade de Hélio-Neônio na prevenção da mucosite induzida por quimioterapia. Participaram do estudo 30 pacientes que receberam altas doses de quimioterapia previamente à realização de transplante de células tronco ou medula óssea. Foi administrada ciclofosfamida através de injeção intravenosa em 27 pacientes nos dias - 5 e - 4. Três pacientes receberam melfalan no dia - 4, além de irradiação corpórea total com 4 Gy por 3 dias. O laser foi aplicado durante 5 dias consecutivos (dia - 5 ao dia - 1) em 5 regiões da cavidade oral: lábio inferior, lábio superior, mucosa jugal, língua e assoalho da boca. Utilizou-se um aparelho de laser operando em 632,8 nm, 60 mW, sendo cada região irradiada em 15 pontos diferentes por 10 segundos, densidade de energia de  $1,5 \text{ J/cm}^2$  e energia total de 54 J em cada região. Os pacientes foram examinados diariamente por enfermeiras que não sabiam qual o tratamento dado (laser ou placebo), sendo a mucosite classificada por sistema de escore de 0 a III. Foram consideradas as características da cavidade oral, além de capacidade

de deglutir, alterações da voz, da saliva e presença de dor. Os pacientes que receberam laser apresentaram menor incidência, severidade e duração de mucosite, havendo diferenças estatisticamente significantes em relação ao grupo que recebeu placebo. Houve ainda, no grupo que recebeu laser, menor incidência de dor, melhor capacidade para deglutir e xerostomia menos acentuada, embora tenha sido necessária a utilização de nutrição via parenteral.

Migliorati et al.<sup>53</sup>, em 2001, realizaram um estudo piloto em que avaliaram a utilização do laser de baixa intensidade no controle da dor associada à mucosite oral após transplante de medula óssea e alta dose de quimioterapia. Todos os 11 pacientes participantes receberam tratamento com laser de arseneto de gálio e alumínio (AsGaAl) em toda a mucosa, sendo o comprimento de onda de 780 nm e potência de 60 mW, com densidade de energia igual a 2 J/cm<sup>2</sup>. A aplicação de laser iniciou-se no dia - 5 terminando no dia + 5 após o transplante. A presença e a severidade da mucosite foram avaliadas por meio da escala WHO e a dor foi medida utilizando-se escala visual. Apenas um paciente apresentou ausência de mucosite, porém, todos toleraram bem o tratamento antineoplásico, não havendo necessidade de interrupção da quimioterapia. Nenhum dos pacientes desenvolveu o escore máximo de dor e de mucosite. Os autores atribuíram esses resultados aos efeitos

benéficos do laser sobre os tecidos e ao seu potencial para controle da dor.

Segundo Bensadoun e Ciais<sup>6</sup> (2002), a mucosite é o principal fator limitante ao tratamento antineoplásico, não havendo, até o presente momento, tratamento apropriado e efetivo. O manejo desta condição é apenas direcionado ao controle dos sintomas e à prevenção de infecções. Os autores realizaram um estudo randomizado duplo-cego para determinar se aplicações preventivas de laser de He-Ne poderiam reduzir ou prevenir a mucosite orofaríngea provocada por radioterapia. Participaram da pesquisa 30 pacientes com idade média de 60,4 anos que foram divididos aleatoriamente em grupo tratado com laser (L+) e grupo tratado com placebo (L-). Previamente à radioterapia realizou-se exame oral e tratamento dentário preventivo. Recomendações de higiene oral diária também foram dadas. A radioterapia teve duração de 7 semanas e os pacientes receberam aplicação do laser por 5 dias consecutivos em cada semana, durante todo o período de tratamento. A irradiação foi feita em 9 áreas distintas da cavidade oral, com comprimento de onda de 632,8 nm, potência de 60mW, densidade de energia de 2 J/cm<sup>2</sup> e tempo de exposição igual a 33 segundos por área. Utilizou-se a escala da Organização Mundial de Saúde para avaliação da mucosite e um escala visual para avaliação da dor. Os autores observaram que a aplicação de laser atrasou o início da mucosite, atenuou seu pico de severidade e reduziu sua duração. Houve diferenças

estatisticamente significantes entre os grupos L+ e L- a partir da semana 4 até a semana 7 do tratamento radioterápico. Todos os pacientes desenvolveram mucosite na semana 2, porém, durante as 7 semanas de tratamento, o escore médio de mucosite foi mais baixo no grupo L+ ( $p=0,01$ ). No grupo L+ também houve redução da administração de morfina, indicando a menor presença de dor neste grupo. Concluiu-se que a laserterapia com He-Ne é um método eficiente e seguro para prevenção da mucosite decorrente de radio e quimioterapia, devendo ser combinada às demais opções existentes.

Para avaliar a efetividade do laser de He-Ne em reduzir lesões orais e sintomatologia dolorosa decorrentes de tratamento quimioterápico administrado em crianças, Van Hamme et al<sup>89</sup>, em 2003, irradiaram 9 regiões distintas da cavidade oral, com o aparelho emitindo luz laser com comprimento de onda de 632,8 nm e densidade de energia variando de 1 a 2 J/cm<sup>2</sup> para prevenção, e 3 a 4 J/cm<sup>2</sup> para cicatrização. O tratamento iniciou-se no primeiro dia de quimioterapia e teve duração de 3 semanas. O laser foi aplicado 3 vezes por semana para prevenção da mucosite e 4 vezes por semana para cicatrização das lesões. A mucosite foi avaliada a partir de escore com 4 pontos. Também foram avaliadas a presença de dor e a capacidade de ingestão de alimentos. Os autores observaram redução na incidência e severidade da mucosite e consideraram a laserterapia capaz de promover cicatrização das lesões. Concluíram que o laser de baixa intensidade representa um tratamento

promissor para crianças que desenvolvem mucosite durante a terapia antineoplásica.

Sandoval et al.<sup>65</sup>, em 2003, avaliaram os benefícios da laserterapia no manejo da mucosite oral em 18 pacientes com idade variando entre 4 e 82 anos, recebendo quimioterapia ou radioterapia para câncer de cabeça e pescoço, leucemia, linfoma e outros sarcomas. A aplicação de laser de baixa intensidade sobre as lesões orais foi realizada diariamente, até a cessação dos sintomas. Utilizou-se aparelho de laser emitindo em 660 nm, 30 mW, 2 J/cm<sup>2</sup> e tempo de 1 minuto e 6 segundos para cada aplicação. A severidade da mucosite foi avaliada por meio de uma escala baseada em características clínicas e na capacidade de deglutição. A dor foi avaliada por meio de uma escala visual, antes e depois de cada aplicação. Os dados obtidos neste estudo mostraram melhora da condição oral dos pacientes após a laserterapia, considerando-se fatores clínicos e funcionais. O alívio da dor foi relatado por 66,6% dos pacientes após aplicação do laser. Mucosite grau III (incapacidade de ingerir alimentos sólidos) foi reduzida em 42,85% dos casos. Mucosite grau IV (presença de úlceras) foi reduzida em 75% dos pacientes que apresentavam esta condição no início da terapia. Os autores concluíram que o laser de baixa potência foi bem tolerado pelos pacientes, mostrou efeitos benéficos sobre a mucosite oral e melhorou a qualidade de vida dos pacientes durante o tratamento oncológico.

Eduardo et al.<sup>25</sup>, em 2004, realizaram estudo duplo-cego para avaliar o efeito da irradiação com laser de baixa intensidade na prevenção de mucosite oral em 70 pacientes que receberam transplante de medula óssea. Esses pacientes foram divididos em 3 grupos (grupo 1: aplicação de laser de 650 nm; grupo 2: laser de 780 nm; grupo 3: placebo). O laser foi aplicado a partir do primeiro dia da terapia condicionante até dois dias após o transplante de medula óssea. A mucosite foi classificada a partir de escores. Os autores concluíram que o laser de diodo de 650 nm, usado como uma medida preventiva, reduziu a severidade da mucosite oral e contribuiu para o controle da dor.

### **2.3 Mecanismo de ação do laser**

Mester et al.<sup>52</sup>, em 1985, descreveram os resultados obtidos com o uso experimental e clínico do laser de baixa intensidade em diversos estudos. Dentre eles, observou-se uma melhor cicatrização de feridas cutâneas produzidas artificialmente no dorso de ratos após a irradiação com laser de rubi, duas vezes por semana, com densidade de energia de  $1,1 \text{ J/cm}^2$ . Este fato foi atribuído à capacidade do laser em estimular o metabolismo celular, promovendo aumento das mitoses e acelerando a formação de tecido de granulação. Em estudo clínico realizado em pacientes apresentando úlceras com cicatrização lenta ou ausente, os autores também observaram os efeitos benéficos do laser de He-Ne e de argônio após irradiação de  $4 \text{ J/cm}^2$ , duas vezes por semana,

em toda a superfície das úlceras. Os autores acreditam que a cicatrização deve-se à estimulação da produção de colágeno, fato confirmado em exames de microscopia eletrônica, e concluem que a utilização do laser de baixa intensidade é recomendada para promover e acelerar a cicatrização de feridas e úlceras.

Karu<sup>38</sup> discutiu, em 1989, os efeitos da luz laser de baixa intensidade sobre diferentes tipos de células e tecidos e buscou explicar os mecanismos de ação da fotoestimulação produzida em nível celular. Segundo a autora, não existem dúvidas sobre a eficácia da laserterapia para tratamento de úlceras e feridas de diversas etiologias, porém, essa modalidade terapêutica ainda não está completamente compreendida e por isso gera dúvidas e ceticismo. A luz laser é capaz de aumentar os processos metabólicos das células e promover um estímulo para a proliferação celular, regulando a concentração de adenosina monofosfato cíclica e a produção de RNA e DNA. Esses efeitos fotobiológicos, entretanto, dependem, da intensidade da luz, da dose e do comprimento de onda, havendo um espectro de ação ideal para os diversos tecidos irradiados. Os componentes moleculares que absorvem a luz com comprimentos de onda específicos, produzindo uma resposta biológica, são os fotorreceptores, representados principalmente por componentes da cadeia respiratória, como citocromos, flavina desidrogenases e citocromo oxidases. Dessa forma, quando as células são irradiadas, a luz é absorvida pelos componentes da cadeia respiratória, o que desencadeia

eventos químicos e físicos na mitocôndria, como o aumento da síntese de ATP e de íon hidrogênio ( $H^+$ ). A concentração aumentada de ATP e  $H^+$  promove a ativação de outros íons da membrana da célula como  $Na^+$  e  $K^+$ , além de alterações no fluxo de  $Ca^{+2}$  entre a mitocôndria e o citoplasma, alterando assim a homeostase celular e estabelecendo a aceleração das mitoses. A autora afirma ainda que a fotossensibilidade das células depende de seu estado fisiológico previamente à irradiação. Quando uma célula apresenta funcionamento normal, o efeito da luz laser pode ser fraco ou inexistente. Ao contrário, diante de uma injúria tecidual, criam-se condições (baixa concentração de oxigênio, pH e nutrientes) que impedem a proliferação celular, sendo o laser um fotoestimulador para reverter essa situação. Concluiu-se que o laser é capaz de bioestimular os tecidos vivos, através de um fenômeno fotobiológico que envolve componentes da cadeia respiratória e que tem como consequência o aumento da proliferação celular e a indução de mudanças no potencial de ação de células excitáveis.

Em 1989, Pourreau-Schneider et al.<sup>59</sup> investigaram a influência de exposição única e múltipla ao laser de baixa intensidade sobre o crescimento de fibroblastos gengivais humanos obtidos a partir de biópsias realizadas na região retromolar de pacientes jovens e saudáveis. Após a biópsia, os espécimes foram preparados para obtenção da cultura de células, sendo os fibroblastos isolados das células epiteliais. Para a realização dos experimentos, as células foram mantidas em garrafas de

25 cm<sup>2</sup> e irradiadas com laser de He-Ne emitindo em 632,8 nm, 10 mW/cm<sup>2</sup>, durante 10 minutos, o que resultou em uma densidade de energia de 1,2 J/cm<sup>2</sup>. O grupo I (12 garrafas) não recebeu tratamento com laser; o grupo II (12 garrafas) recebeu 10 minutos de laser no dia 0; o grupo III (9 garrafas) foi irradiado nos dias 0 e 7 e o grupo IV (9 garrafas) nos dias 0, 7 e 11. Após os períodos experimentais, contou-se o número de células de cada garrafa e as mesmas foram preparadas para avaliação em microscópio eletrônico de transmissão. A fotobioestimulação com laser de baixa intensidade promoveu aumento do número de fibroblastos nos grupos tratados sendo que os grupos que receberam múltipla irradiação apresentaram maior crescimento. As observações em microscópio eletrônico de transmissão revelaram diversas modificações morfológicas nos grupos irradiados, dentre elas hiperplasia e hipertrofia mitocondrial e abundante matriz fibrilar na região intercelular. Os autores sugerem que a presença de área microfilamentosas no citoplasma das células tratadas indica o potencial da laserterapia em induzir a formação de miofibroblastos, que são fenótipos celulares encontrados em tecidos de granulação durante processos de reparo, apresentando atividade contrátil e sintetizando colágeno.

Rochkind et al.<sup>62</sup>, em 1989, avaliaram a ação do laser de baixa intensidade sobre o sistema nervoso de ratos Sprague-Dawley e sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas realizadas no dorso dos animais e de queimaduras provocadas em suas patas traseiras. As

injúrias foram realizadas bilateralmente e irradiou-se apenas um dos lados comprometidos, sendo utilizado aparelho de He-Ne (632,8 nm) com potência óptica de saída de 16 mW. Utilizou-se densidade de energia de  $7,6 \text{ J/cm}^2$  para o tratamento das feridas cutâneas e  $10 \text{ J/cm}^2$  para o tratamento das queimaduras. Os animais receberam irradiação durante 7 minutos diariamente, por um período de 21 dias. Os autores observaram a aceleração da cicatrização das feridas induzidas não apenas do lado irradiado, mas também do lado não irradiado com laser. Também se observou melhora da cicatrização das queimaduras induzidas nas patas traseiras dos animais tanto do lado irradiado quanto do lado não irradiado, evidenciando um possível efeito sistêmico do laser. O grupo controle foi composto por animais que não receberam tratamento para as feridas cutâneas e para as queimaduras, apresentando ulcerações severas, necrose e gangrena. Os autores concluíram que a irradiação com laser de baixa intensidade acelerou a recuperação funcional e morfológica dos tecidos comprometidos e ainda apresentou efeitos sistêmicos benéficos.

Harris<sup>34</sup>, em 1991, afirmou que para se compreender os mecanismos de ação da bioestimulação produzida pelo laser é preciso primeiramente entender o efeito da irradiação sobre as funções celulares e o papel dos cromóforos, aglomerados moleculares que absorvem luz. O evento físico inicial que ocorre durante a utilização do laser é a absorção da luz por moléculas específicas presentes nos tecidos irradiados, sendo que os citocromos, presentes nas mitocôndrias, são considerados

fundamentais na absorção da luz e representam os cromóforos da bioestimulação. O papel do citocromo é liberar energia para formação do ATP, substância responsável por manter o metabolismo celular, tendo também a capacidade de absorver energia. Tal fato explicaria a ação do laser, uma vez que a energia luminosa proveniente da irradiação é usada para a síntese de ATP pela célula, promovendo, conseqüentemente, o aumento do metabolismo celular. Porém, parece haver um mecanismo limitante para prevenir aumentos da taxa metabólica além do normal e desta forma a bioestimulação teria um efeito estimulatório seletivo sobre células deficientes, sem ação sobre tecidos normais.

Estudo realizado por Honmura et al.<sup>36</sup>, em 1992, avaliou o efeito terapêutico do laser diodo de AsGaAl (780 nm, 10 mW, 31,8 J/seg/cm<sup>2</sup>) sobre a inflamação induzida em ratos através da inoculação de carragenina, um potente irritante inflamatório. Os grupos experimentais receberam tratamento com laser ou com o antiinflamatório indometacina. Utilizaram-se 3 métodos de avaliação da inflamação: 1 - Inoculação da carragenina em bolsas produzidas na região subcutânea do dorso dos animais para avaliação da permeabilidade vascular com auxílio de corantes. A região foi irradiada em cinco pontos, durante tempo máximo de 10 minutos; 2 - Formação de granuloma. Implantou-se papel absorvente contendo a droga na região subcutânea do dorso do animal e irradiou-se essa região durante 7 dias por até 5 minutos. Após o período experimental, o papel foi removido juntamente com o tecido de

granulação formado, sendo analisado o peso deste tecido nos grupos estudados; 3 - Formação de edema na pata. Neste modelo experimental, injetou-se a droga nas patas traseiras dos animais, sendo uma delas tratadas com laser ou indometacina e a outra representando o controle. A irradiação foi realizada por até 3 minutos. Comparou-se o aumento de volume nas regiões experimentais. Os animais que receberam aplicação de laser apresentaram diminuição da permeabilidade vascular no estágio de inflamação aguda; a formação de granuloma foi 20 % menor no grupo tratado com laser e essa modalidade terapêutica também foi capaz de reduzir o edema induzido. O efeito inibitório do laser foi superior ao da indometacina apenas no modelo de indução de granuloma, porém, em todos os casos a irradiação por menos de 10 minutos foi suficiente para inibir a inflamação em 20-30 %.

Shimizu et al.<sup>67</sup>, em 1995, realizaram estudo *in vitro* para determinar o efeito de laser de baixa intensidade na produção de prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ) e interleucina- $1\beta$  ( $IL-1\beta$ ) em células do ligamento periodontal humano submetidas a estresse mecânico. As células utilizadas foram cultivadas em placas de fundo flexível e receberam uma força de tensão aplicada com um aparelho de vácuo chamado Flexecell Strain Unit, capaz de deformar o fundo da placa de cultura e promover uma elongação que é transmitida às células. A força de tensão foi aplicada às células durante 1, 3 e 5 dias. A irradiação foi realizada um vez ao dia durante 1, 3 e 5 dias com aparelho de laser de

AsGaAl de 830 nm, 60 mW, tempo de exposição de 3, 6 e 10 minutos e densidade de energia correspondente variando entre 346 e 1153 J/cm<sup>2</sup>. A concentração de PGE<sub>2</sub> e IL-1 $\beta$  liberadas no meio de cultura foi determinada a partir de testes imunoradioativos. Os autores observaram que a aplicação de força de tensão nas células utilizadas induziu aumento da liberação de PGE<sub>2</sub> e IL-1 $\beta$ , de maneira tempo-dependente. O aumento da produção de PGE<sub>2</sub> e IL-1 $\beta$  foi inibido pela irradiação com laser de baixa intensidade de maneira dose-dependente. Os autores discutem a importância destes achados uma vez que tanto a PGE<sub>2</sub> como a IL-1 $\beta$  estão envolvidos no processo inflamatório e na indução de dor e, dessa forma, o uso do laser seria uma opção terapêutica para o alívio da dor que acompanha, por exemplo, as movimentações dentárias em tratamentos ortodônticos.

Em 1996, Conlan et al.<sup>16</sup> revisaram diversas pesquisas com o objetivo de avaliar os princípios básicos da bioestimulação produzida pela laserterapia. Os autores relataram que essa modalidade terapêutica vem sendo usada há mais de 20 anos com o objetivo de bioestimular os tecidos vivos, regulando os processos metabólicos celulares, melhorando o potencial regenerativo dos tecidos e apresentando potencial antiinflamatório e analgésico. Os autores observaram que o uso do laser ainda gera dúvidas, sendo que muitos problemas encontrados em estudos já realizados referem-se aos diferentes parâmetros usados, como tipo de laser, tempo de exposição,

energia usada e tipo de tecido ou célula alvo, o que dificulta a comparação de resultados. Além disso, muitos estudos apresentam medidas subjetivas e que não são bem controlados, comprometendo a confiabilidade dos resultados. Os autores observaram ainda que os aparelhos de laser produzem uma forma particular de irradiação, sendo a luz produzida monocromática, colimada e coerente, ao contrário da luz visível comum que é incoerente e engloba um amplo espectro de comprimento de onda de baixa intensidade. O mecanismo de ação do laser foi atribuído à absorção da luz monocromática pelas mitocôndrias gerando aumento dos processos metabólicos celulares. Assim, relatou-se o aumento de produção de ATP, proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno, estimulação de macrófagos, liberação de fatores de crescimento e de citocinas pelos fibroblastos, incorporação de ácido ascórbico pela célula e maior taxa de produção de matriz extracelular. Os autores concluíram que o papel do laser na bioestimulação da cicatrização de feridas em humanos ainda não está esclarecido, sendo necessários estudos em modelos animais que se assemelhem ao homem e a padronização de densidades de energia, comprimentos de onda e tipos de aparelhos a serem utilizados.

Garcia et al.<sup>29</sup>, 1996, propuseram-se a analisar histologicamente o processo de reparação de feridas cutâneas provocadas na região dorsal de ratos e submetidas ao tratamento com laser. Com o auxílio de um *punch*, foram removidos dois fragmentos

circulares de pele do dorso de 15 animais, sendo um à esquerda (controle) e outro à direita (ferida experimental, tratada com laser) do plano sagital mediano. Utilizou-se aparelho de laser de semiconductor com meio ativo de AsGa, infravermelho, de emissão pulsátil, 904 nm, 2100 Hz, 2 mW, 3 J/cm<sup>2</sup> em 8 pontos da ferida, totalizando 108 segundos de aplicação. Os animais foram mortos decorridos 3, 7 e 14 dias dos procedimentos operatórios e da aplicação do laser. As peças foram removidas e processadas para realização da análise histológica. Os autores concluíram que as feridas experimentais tratadas com laser demonstraram reparação mais acelerada que a do grupo controle. Ficou evidente a maior taxa de migração epitelial, acentuada proliferação fibroblástica e vascular nas feridas experimentais, sendo esses efeitos biológicos mais evidentes no período de 3 e 7 dias.

Reddy et al.<sup>61</sup>, em 1998, realizaram estudo para determinar os efeitos da fotoestimulação com laser sobre a produção de colágeno durante processo de cicatrização em tendão de Aquiles de coelhos. Foram realizadas incisões no tendão de Aquiles do lado direito em 24 coelhos. Após reparo, os membros operados foram imobilizados e os animais foram distribuídos em grupo controle e experimental. O grupo experimental recebeu tratamento diário durante 14 dias com laser de He-Ne de 632,8 nm e 1 J/cm<sup>2</sup>. Após o período experimental, os tendões foram excisionados e processados para posterior análise bioquímica. O conteúdo total de colágeno foi determinado através de medidas da

concentração de hidroxiprolina em cada amostra tecidual. Os autores encontraram um aumento de 26% na concentração de colágeno no grupo irradiado com laser, o que indicou um processo de cicatrização mais rápido quando comparado ao grupo controle. As análises bioquímicas também revelaram maior concentração de colágeno solúvel e insolúvel sugerindo produção de colágeno acelerada no grupo experimental. Os autores concluíram que a utilização de terapia com laser de baixa intensidade para a cicatrização de tendões de coelhos facilitou e estimulou a produção de colágeno melhorando e acelerando o processo de cicatrização.

Tatarunas et al.<sup>86</sup>, em 1998, realizaram estudo para avaliar a ação do laser de baixa intensidade de AsGa (904 nm), modo pulsátil, 27 W, em feridas cirúrgicas de pele de felinos. Realizou-se incisão cutânea de 6 cm e os animais foram divididos em 3 grupos, sendo que o grupo A recebeu irradiação de 4 J/cm<sup>2</sup>, em 4 pontos; o grupo B recebeu 2 J/cm<sup>2</sup> em 4 pontos e o grupo C representou o controle, sem tratamento. Os animais foram avaliados clinicamente e histopatologicamente após biópsia realizada nos dias 2, 4, 8 e 15 após o ato cirúrgico. A análise dos resultados obtidos permitiu aos autores concluir que o laser de AsGa nas dosagens de 2 e 4 J/cm<sup>2</sup> atuou positivamente na cicatrização por primeira intenção de feridas cirúrgicas em pele de felinos e a dose de 2 J/cm<sup>2</sup> se mostrou mais vantajosa.

Garcia et al.<sup>30</sup>, em 2000, estudaram a influência do número de aplicações do laser de baixa intensidade de AsGa de 904 nm, 2 mw, 2100 Hz, 3 minutos de exposição totalizando 0,36 J/cm<sup>2</sup>, sobre o processo de reparação alveolar em ratos. Realizou-se exodontia do incisivo superior direito em 64 ratos divididos igualmente em 4 grupos. Os animais do grupo I não receberam nenhum tratamento após a exodontia; Os animais do grupo II foram submetidos à aplicação única de laser, realizada imediatamente após a sutura das bordas da ferida. No grupo III, realizaram-se duas aplicações de laser, uma imediatamente e outra 24 horas após o ato cirúrgico e no grupo IV foram feitas 3 aplicações de laser, imediatamente, 24 e 48 horas após o ato cirúrgico. Decorridos 3, 7, 14 e 21 dias do ato cirúrgico, 4 animais de cada grupo foram mortos e a região contendo o alvéolo dental foi preparada para exame histológico. Durante análise dos resultados, os autores observaram que as feridas do grupo experimental, tratadas com laser, demonstraram processo de reparação alveolar mais diferenciado, caracterizado por formação mais rápida de tecido de granulação cicatricial, neoformação óssea precoce e fechamento rápido das bordas da ferida. Observou-se, ainda, que quanto maior a frequência de aplicação do laser de baixa intensidade, mais acelerado foi o processo de cicatrização e as características mais favoráveis observadas nos grupos experimentais persistiram ao longo de toda a pesquisa.

Lucas et al.<sup>50</sup>, em 2000, realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de identificar estudos clínicos randomizados que avaliassem o uso do laser terapêutico infravermelho (820-950 nm) na cicatrização de feridas em humanos. Para tanto foram pesquisadas publicações entre o período de 1975 e 1998 em bases de dados eletrônicas. Os estudos encontrados foram avaliados e classificados de acordo com sua qualidade metodológica. A literatura apontou 8 estudos que combinavam laserterapia e feridas em humanos, e destes, apenas 4 eram estudos clínicos randomizados. Apenas um estudo demonstrou o efeito benéfico da laserterapia. Em geral, a qualidade metodológica dos estudos avaliados variou de pobre a insuficiente. Os autores encontraram problemas no delineamento experimental dos estudos, altas taxas de desistência dos pacientes durante o experimento, existência de intervenções terapêuticas concomitantes à laserterapia, ausência de descrição dos métodos de randomização dos pacientes e tamanho inadequado da amostra. Segundo os autores, esses fatores acabam interferindo no poder estatístico para detectar efeitos clínicos relevantes. Associa-se a isso problemas resultantes da existência de diversos parâmetros para a utilização do laser, sendo os resultados dependentes do comprimento de onda, pulso, irradiância, densidade de energia, potência do aparelho e tempo de tratamento. Concluiu-se que não existem evidências científicas suficientes para a aplicação clínica do laser infravermelho no processo de reparo de feridas em pacientes com úlceras

de decúbito, úlceras venosas na perna e outros tipos de feridas crônicas, sendo necessários novos estudos nesta área.

Sakurai et al.<sup>64</sup>, em 2000, realizaram estudo com o objetivo de determinar os efeitos da irradiação laser sobre a produção de PGE<sub>2</sub> e sobre a expressão gênica de cicloxigenase 1 e 2 em fibroblastos gengivais humanos expostos ao lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano. As células foram obtidas a partir de gengiva da papila dentária de pacientes saudáveis, sendo posteriormente expostas ao LPS extraído de cepas bacterianas de *C. rectus* e irradiadas com laser de diodo de AsGaAl (830 nm), tempo de exposição variando entre 3 e 20 minutos e densidade de energia correspondente variando entre 0,95 e 6,32 J/cm<sup>2</sup>. A quantidade de PGE<sub>2</sub> liberada no meio de cultura foi determinada por teste radioimunológico e os níveis de RNAm de COX-1 e COX-2 foram analisados por RT-PCR (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*), tanto no grupo controle como no grupo irradiado. Os autores observaram que a irradiação com laser reduziu significativamente a produção de PGE<sub>2</sub>, com resultados dose-dependentes; irradiação durante 10 minutos inibiu 90 % da produção desse mediador químico; irradiação durante 20 minutos reduziu a produção de PGE<sub>2</sub> ao nível do grupo controle. A inibição da produção de PGE<sub>2</sub> levou ainda à redução dos níveis de RNAm COX-2. Concluiu-se que a irradiação com laser de AsGaAl de 830 nm promoveu a inibição de PGE<sub>2</sub> por fibroblastos gengivais humanos através da redução de RNAm COX-2 e os resultados

apresentados foram considerados efeitos antiinflamatórios da laserterapia refletindo os eventos que ocorrem *in vivo*.

Schlager et al.<sup>66</sup>, em 2000, avaliaram o efeito da irradiação com laser de baixa intensidade na cicatrização de queimaduras realizadas em ratos. Foram utilizados 30 animais divididos igualmente em 3 grupos. As queimaduras foram realizadas em ambos os flancos dos animais e apenas uma região foi tratada diariamente com laser de diodo apresentando 670nm, 250mW e com densidade de energia de 2 J/cm<sup>2</sup>. A região contralateral representou o controle, não recebendo irradiação com laser. Os animais foram sacrificados após 10 dias (grupo I), 20 dias (grupo II) e 30 dias (grupo III) para análise histopatológica. As queimaduras foram classificadas macroscopicamente e microscopicamente por meio de escores. Observou-se uma epitelização acelerada no grupo tratado, e maior edema no grupo controle, porém não houve diferença estatisticamente significativa. Também não houve diferença estatística nos achados histológicos (epitelização, conteúdo celular, tecido de granulação e vascularização) entre as feridas tratadas e não tratadas. Os autores concluíram que a irradiação de queimaduras com laser de diodo de 670 nm não proporcionou benefícios no processo de cicatrização.

Almeida-Lopes et al.<sup>3</sup>, em 2001, avaliaram o efeito do laser de baixa intensidade na proliferação de fibroblastos gengivais, *in vitro*, utilizando uma cultura primária de fibroblastos obtidos a partir de mucosa oral humana. As células foram cultivadas em meio de cultura

contendo soro fetal bovino a 5 % (condição de déficit nutricional) e a 10% (condição ideal). O tratamento foi realizado com laser diodo com os seguintes comprimentos de onda: 670 nm, 780 nm, 692 nm e 786 nm. A fluência foi fixada em 2 J/cm<sup>2</sup> e o tempo determinado automaticamente pelo aparelho. Os autores analisaram o crescimento celular antes da irradiação e encontraram que as células cultivadas em condições de déficit nutricional apresentaram proliferação estatisticamente menor que as células cultivadas nas condições ideais. Entretanto, quando irradiadas, as células em déficit nutricional apresentaram proliferação similar ou maior que aquelas do grupo controle. Os autores observaram que empregando-se a mesma potência, o crescimento celular mostrou-se similar entre os grupos experimentais, independentemente do comprimento de onda usado. Também se observou que tempos de exposição menores resultaram em maior proliferação celular. Conclui-se que o laser terapêutico aumentou, *in vitro*, a proliferação de fibroblastos.

Garcia et al.<sup>30</sup> realizaram, em 2001, estudo em ratos com o objetivo de avaliar, histologicamente, o processo de reparação em feridas de extração dental submetidas ao tratamento com laser de baixa intensidade de AsGa, infravermelho, de 904 nm apresentando diferentes energias. Para o desenvolvimento da pesquisa, realizou-se a exodontia do incisivo superior direito de 48 ratos que foram divididos igualmente em grupo controle (sem tratamento, sendo realizada apenas a sutura das bordas alveolares com fio de seda), grupo II (uma aplicação de laser

pulsado na face vestibular do alvéolo, com 500 Hz, 0,8 mW, 180 segundos de exposição, 20 J/cm<sup>2</sup> de fluência e energia total de 0,14 J) e grupo III ( uma aplicação de laser pulsado com 3700 Hz, 5,6 mW, 180 segundos, 154,2 J/cm<sup>2</sup> de fluência e 1,08 J de energia). Decorridos 3, 7, 14 e 21 dias, 4 animais de cada grupo foram mortos e removeu-se a porção da maxila contendo o alvéolo dental tratado e não tratado. Os autores observaram durante o exame histopatológico que as feridas de extração dental submetidas ao tratamento com laser (grupos II e II) apresentaram reparação mais acelerada e diferenciada quando comparada a do grupo controle. As feridas do grupo III mostraram resultados ainda mais satisfatórios em relação ao grupo II, o que sugere que o laser com potência média de saída de 5,6 mw e 1,08 J de energia proporciona efeitos biológicos superiores, havendo formação mais rápida de tecido de granulação cicatricial e neoformação óssea mais acentuada.

Os efeitos bioestimulantes da terapia com laser de baixa intensidade sobre feridas agudas pós-cirúrgicas foram avaliados por Lagan et al.<sup>48</sup>, em 2001, por meio de um estudo clínico controlado realizado em pacientes com avulsão parcial ou total de unhas do pé. O tratamento foi realizado em 7 feridas utilizando-se aparelho de laser de diodo de 830 nm, potência média de 30 mW, modo contínuo, densidade de energia de 9 J/cm<sup>2</sup>. A irradiação foi realizada uma vez por semana em diversos pontos da margem das lesões. O grupo controle foi composto por 5 feridas, tratadas da maneira convencional. A avaliação das feridas foi

realizada por um único examinador de maneira cega, sendo ainda avaliada a sintomatologia dolorosa. Os autores não encontraram diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle e o tratado com laser quando se avaliou o fechamento da ferida nem quando se avaliou o nível de dor relatado pelos pacientes e concluíram que não houve efeito benéfico da irradiação com laser infra-vermelho nas dosagens utilizadas para o tratamento de feridas agudas pós-cirúrgicas.

Nomura et al.<sup>55</sup>, em 2001, avaliaram a influência da irradiação com laser de baixa intensidade na expressão de IL-1 $\beta$  em cultura de fibroblastos gengivais humanos. Essas células residem no tecido gengival, alvo freqüente das bactérias orais, sendo que o LPS liberado por patógenos periodontais podem estimular a produção de IL-1 $\beta$ , citocina relacionada ao processo inflamatório. Ante a capacidade do LPS em induzir a liberação de IL-1 $\beta$ , adicionou-se LPS isolado de *Campylobacter rectus* ao meio de cultura e as células foram então irradiadas com laser de AsGaAl de 830 nm, com densidade de energia de 3,95 a 7,90 J/cm<sup>2</sup>. O tempo de exposição variou de 3 minutos até 20 minutos. Observou-se aumento acentuado na produção de IL-1  $\beta$  induzida pelo LPS, sendo essa citocina significativamente inibida após a irradiação com laser, de maneira dose-dependente. A irradiação durante 20 minutos reduziu a produção de IL-1 $\beta$  ao nível do grupo controle, cujo meio de cultura não recebeu adição de LPS. Através da realização de RT-PCR, observou-se que esse efeito inibitório do laser sobre a IL-1 $\beta$  relacionou-se

a redução do mRNA da citocina e não à redução da enzima conversora de IL-1 $\beta$ , responsável pela maturação dessa citocina. Os autores concluíram que a irradiação com laser foi capaz de inibir a produção de IL-1 $\beta$  sugerindo que a laserterapia representa uma opção para combater as injúrias provocadas pela gengivite e periodontite.

Para investigar os efeitos do laser diodo de 809 nm na proliferação de fibroblastos gengivais humanos, Kreisler et al.<sup>45</sup>, em 2002, realizaram estudo *in vitro*. A irradiação foi realizada durante 75, 150 e 300 segundos correspondendo a uma fluência de 1,96, 3,92 e 7,84 J/cm<sup>2</sup>, respectivamente, em regime único, por duas ou três vezes, com intervalo de 24 horas. A taxa de proliferação celular foi determinada após 24, 48 e 72 horas da irradiação por meio da fluorescência determinada por um indicador da atividade metabólica celular adicionado ao meio de cultura (Alamar Blue Assay). As culturas irradiadas demonstraram proliferação celular estatisticamente maior. Os autores concluíram que o efeito celular da irradiação com luz laser é evidente, mas sua duração é limitada, uma vez que as diferenças entre os grupos diminuem de maneira dose-dependente após 48 e 72 horas da irradiação. Os autores relatam ainda que o principal problema da utilização clínica do laser é a determinação da dosagem ideal, sendo necessários estudos que avaliem vários regimes de irradiação.

Pereira et al., em 2002<sup>58</sup>, realizaram um estudo *in vitro* para avaliar o efeito do laser não-cirúrgico no crescimento de culturas de

fibroblastos e na síntese de pro-colágeno. Células da linhagem NIH – 3T3 cresceram em condições de déficit nutricional e foram irradiadas com laser diodo de AsGa (904 nm) operando com 120 mW e densidade de energia variando entre 3 e 5 J/cm<sup>2</sup>. O número de células foi determinado através da contagem das células viáveis em hemocítômetro após 2, 4, 5, e 6 dias. Para a análise da síntese de procolágeno, realizou-se sua imunoprecipitação usando-se um anticorpo anticolágeno policlonal I e posterior eletroforese das amostras. Comparou-se a densitometria das bandas de procolágeno formadas em *software* apropriado. As culturas tratadas com 3 e 4 J/cm<sup>2</sup> apresentaram rápido crescimento celular apresentando valores significativamente maiores do que os encontrados no grupo controle. As culturas tratadas com 5 J/cm<sup>2</sup> apresentaram crescimento similar ao grupo controle durante todo o período experimental. Não houve diferenças na quantidade de procolágeno produzida pelos dois grupos. Os autores concluíram que a resposta celular mediante a bioestimulação com laser depende da combinação entre o comprimento de onda usado, a densidade de energia, a potência e o tempo de irradiação, sendo importante a realização de novos estudos em culturas de células para se determinar a melhor combinação entre esses parâmetros em diferentes linhagens celulares.

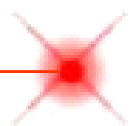
Kreisler et al.<sup>46</sup>, em 2003, investigaram o potencial estimulatório do laser diodo de AsGaAl de 809 nm sobre a taxa de proliferação de fibroblastos humanos provenientes do ligamento

periodontal. Os fibroblastos foram obtidos a partir do ligamento periodontal de terceiros molares, cultivados em condições padronizadas e espalhados em placas de cultura com 96 compartimentos. As células foram irradiadas durante 75, 150 e 300 segundos. O aparelho de laser operou com 10 mW de potência e fluência de 1,96, 3,92 e 7,84 J/cm<sup>2</sup>, em função do tempo de irradiação. As taxas de proliferação do grupo irradiado e do controle foram determinadas em 24, 48 e 72 horas após a irradiação por meio de um indicador de fluorescência com potencial de evidenciar o metabolismo celular (Alamar blue assay). Ocorreu aumento da proliferação celular nos grupos irradiados com as três diferentes fluências. Os autores discutiram sobre a necessidade de uma dose e um comprimento de onda específicos para a existência de um efeito biológico sobre os fibroblastos, sendo considerado o espectro de absorção ideal aquele variando entre 800 a 830 nm e concluíram que existiu um efeito celular após a irradiação com laser de diodo de 809 nm.

Estudo realizado por Koutná et al.<sup>44</sup>, em 2003, avaliou o efeito de um laser com meio ativo de semicondutor de 830 nm sobre a proliferação de células HeLa (células humanas provenientes de câncer cervical). Estas foram mantidas em meio de cultura padrão, a 37 °C e atmosfera de 95% de ar e 5% de CO<sub>2</sub> e posteriormente transferidas para placas com compartimentos. A irradiação foi realizada em modo contínuo e pulsado com densidade de energia variando de 2 a 99 J/cm<sup>2</sup> e potência variando entre 72 e 360 mW. As células irradiadas foram incubadas e sua

proliferação avaliada pelo teste MTT, método capaz de indicar atividade mitocondrial. As análises foram realizadas após 24, 48, 72 e 96 horas da aplicação do laser. As células irradiadas no modo pulsado apresentaram maior taxa de proliferação em relação às células irradiadas no modo contínuo e os autores concluíram que a luz laser na região do infravermelho próximo (830 nm) é capaz de estimular a proliferação de células HeLa dentro do intervalo de 2 a 99 J/cm<sup>2</sup>, sendo esse efeito dependente do modo de irradiação.

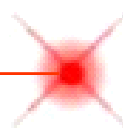
Proposição



### **3 Proposição**

O objetivo deste trabalho foi determinar se o emprego do laser de baixa intensidade de semiconductor com comprimento de onda de 685 nm e meio ativo de InGaAlP (Índio-gálio-alumínio-fósforo) reduz a incidência ou a intensidade da mucosite induzida por tratamento quimioterápico (5-FU) em hamsters.

## Material e método



## **4 Material e método**

O protocolo de pesquisa apresentado a seguir foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Anexo 1).

### **4.1 Procedimentos operatórios**

Foram utilizados 65 hamsters Sírios Dourados (*Mesocricetus Auratus*), machos, com peso variando entre 90 e 160 gramas e idade entre 6 e 8 semanas. Os animais foram mantidos em gaiolas no biotério do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP e tiveram acesso livre à comida e à água. Cada gaiola continha no máximo 5 animais, identificados individualmente com perfurações na orelha, e que foram monitorados e pesados diariamente. Os animais foram aleatoriamente divididos em 3 grupos e distribuídos da seguinte maneira:

**Grupo I:** Grupo experimental, composto por 30 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com laser de baixa intensidade com comprimento de onda de 685 nm e meio ativo de InGaAlP durante 7 dias.

**Grupo II:** controle positivo, composto por 30 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e não receberam tratamento.

**Grupo III:** Controle negativo, composto por 5 animais que não receberam o protocolo de indução de mucosite. A única intervenção realizada neste grupo foi a realização de biópsia excisional das mucosas jugais para exame histopatológico.

A indução da mucosite foi realizada por meio de injeção intraperitoneal do quimioterápico fluoruracila (5-FU)\* nos dias 0 e 2 do experimento, nas doses de 90 mg/Kg de peso e 60 mg/Kg de peso, respectivamente (Figura 1).

Para reproduzir o efeito de uma irritação crônica, a mucosa jugal dos animais foi evertida e fixada na mesa cirúrgica com auxílio de agulhas para insulina e escarificada (traumatizada) superficialmente nos dias 3 e 4 do experimento. A escarificação foi realizada com uma escova confeccionada com fio ortodôntico (Figura 2 e Figura 3), apresentando 2 cm de largura, a qual foi arrastada na superfície da mucosa por 4 vezes consecutivas, com força suficiente para produzir leve eritema na região. Este procedimento foi realizado por um único operador.

Os hamsters do grupo I tiveram a mucosa jugal irradiada a partir do dia 0 até o dia 6 do experimento, sendo utilizado o aparelho de

---

\* Fluoro-Uracil® 250mg/10ml, ICN Farmacêutica Ltda.

laser de baixa intensidade Thera Lase\* (Figura 4), ajustado para emitir luz com comprimento de onda de 685 nm e potência de 30 mW.

Foram irradiados 5 pontos distintos da mucosa jugal direita e esquerda de cada animal (Figura 5) com densidade de energia de 12 J/cm<sup>2</sup>, durante 10 segundos. A energia total aplicada em cada mucosa jugal foi igual a 1,5 J. O aparelho de laser foi calibrado diariamente, previamente a sua utilização.

Foram selecionados, aleatoriamente, 6 animais dos Grupos I e II para realização de biópsia excisional da mucosa jugal direita e esquerda nos dias 0, 4, 8, 12 e 15 do experimento. Nestes períodos experimentais, as mucosas foram evertidas, fixadas em pedaço de cortiça e removidas com uma tesoura cirúrgica (Figura 6). O tecido removido foi imediatamente imerso em solução de formalina a 10%, por um período de 72 horas.

---

\* D.M.C. Equipamentos Ltda. São Carlos – SP



Em todos os procedimentos operatórios (escarificação da mucosa, aplicação do laser de baixa intensidade, tomadas fotográficas e obtenção das biópsias) os animais foram anestesiados por meio de injeção intraperitoneal do anestésico geral Ketamina\* na dosagem de 0,08 ml para cada 100 g de peso corporal do animal, associado ao relaxante muscular e analgésico Cloridrato de Xylazina\*\* na dosagem de 0,04 ml para cada 100 g de peso corporal. Utilizou-se sobredosagem do anestésico hidrato de cloral a 10% para induzir a morte nos animais após a realização da biópsia excisional de suas mucosas jugais.

Para a realização do exame histopatológico, as peças cirúrgicas foram obtidas da região central da mucosa jugal já fixada em formol. Essa região foi seccionada ao meio e as duas partes obtidas foram armazenadas em compartimentos plásticos devidamente identificados. Após lavagem em água corrente por 24 horas, as peças foram submetidas ao seguinte processamento laboratorial de rotina:

1) Fase de desidratação por trocas consecutivas de álcoois em concentrações crescentes:

- álcool 70% por 24 horas;

---

\* Francotar ® - 10 mL – uso veterinário. Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda.

\*\* Virbaxyl ® - 10 mL – uso veterinário. Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda.

- álcool 80%, duas trocas de 60 minutos;
- álcool 90%, duas trocas de 60 minutos;
- álcool absoluto (100%), por 72 horas, sendo realizadas três trocas a cada período de 24 horas.

2) Fase de diafanização:

- álcool/xilol por 60 minutos;
- xilol puro por 6 horas.

3) Fase de embebição das biópsias em parafina líquida:

- Peças cirúrgicas imersas em parafina líquida foram colocadas em estufa (60°C), onde permaneceram por 4 horas.

Após o processamento laboratorial, as peças cirúrgicas foram incluídas em blocos de parafina, sendo estes posicionados em um micrótomo rotatório\*, onde foram desbastados com o auxílio de navalhas descartáveis\*\* até que se alcançasse a peça. Cortes histológicos com 6 µm de espessura foram colocados em lâminas de vidro e corados alternadamente pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Masson e Brown-Brenn para posterior avaliação dos eventos

---

\* 820 Spencer Microtome, Spencer Products Co., Carson, CA, USA.

\*\* Disposable Microtome Blades - LEICA, model 818, Germany

histopatológicos ocorridos em cada um dos grupos através de microscopia de luz\*.

---

\* Microscópio Olympus BX51, Olympus Optical do Brasil, Ltda

## 4.2 Avaliação clínica da mucosite

A partir do dia 4 do experimento as úlceras foram avaliadas diariamente, sendo a mucosa jugal evertida após anestesia e fotografada com máquina digital\*, utilizando-se parâmetros padronizados.

A avaliação clínica da severidade da mucosite foi realizada a partir da observação das fotografias obtidas, que foram previamente embaralhadas e codificadas por um examinador e analisadas de maneira cega por um segundo examinador. Cada fotografia foi classificada por meio de uma escala de 6 pontos (SONIS et al.<sup>75</sup>, 2000), mostrada na Tabela 1 e na Figura 7.

Tabela 1 - Classificação clínica da mucosite

| Classificação da mucosite | Características clínicas da mucosa jugal                                      |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Grau 0                    | Mucosa saudável                                                               |
| Grau 1                    | Presença de eritema leve, sem sinais de erosão                                |
| Grau 2                    | Eritema severo, vasodilatação e erosão superficial                            |
| Grau 3                    | Formação de úlceras em um ou mais locais, restritas a 25% da superfície total |
| Grau 4                    | Formação de úlceras abrangendo 50% da região                                  |
| Grau 5                    | Completa ulceração da mucosa e perda de elasticidade/maleabilidade            |

---

\* Canon ® Power Shot G3 4.0 megapixel.



### 4.3 Avaliação histopatológica da mucosite

As características do tecido foram analisadas de maneira subjetiva e comparativa, de acordo com a intensidade da reação inflamatória no local. O material foi classificado em escores (Tabela 2 e Figura 8) por um único examinador e de maneira cega. Os eventos histológicos observados na região da mucosa para cada grupo experimental foram descritos nos diversos períodos de avaliação.

Tabela 2 – Classificação dos eventos histopatológicos

| Escore | Evento histopatológico |
|--------|------------------------|
| 0      | Inflamação ausente     |
| 1      | Inflamação discreta    |
| 2      | Inflamação moderada    |
| 3      | Inflamação severa      |
| 4      | Formação de abscesso   |



#### 4.4 Resumo dos procedimentos

Na Tabela 3 estão relacionados os procedimentos experimentais ao longo dos dias do experimento.

Tabela 3 – Representação esquemática do experimento

|                       | Dia do experimento                           |                        |                                   |                                   |                                              |                                   |                                   |                                              |                                   |                                              |                                   |                                              |  |
|-----------------------|----------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|--|
|                       | 0                                            | 1                      | 2                                 | 3                                 | 4                                            | 5-6                               | 7                                 | 8                                            | 9-11                              | 12                                           | 13-14                             | 15                                           |  |
| Injeção de 5-FU       | <div><div></div><div></div></div>            |                        | <div><div></div><div></div></div> |                                   |                                              |                                   |                                   |                                              |                                   |                                              |                                   |                                              |  |
| Arranhadura da mucosa |                                              |                        |                                   | <div><div></div><div></div></div> | <div><div></div><div></div></div>            |                                   |                                   |                                              |                                   |                                              |                                   |                                              |  |
| Aplicação de laser    | <div><div></div></div>                       | <div><div></div></div> | <div><div></div></div>            | <div><div></div></div>            | <div><div></div></div>                       | <div><div></div></div>            |                                   |                                              |                                   |                                              |                                   |                                              |  |
| Fotografia            |                                              |                        |                                   |                                   | <div><div></div><div></div></div>            | <div><div></div><div></div></div> | <div><div></div><div></div></div> | <div><div></div><div></div></div>            | <div><div></div><div></div></div> | <div><div></div><div></div></div>            | <div><div></div><div></div></div> | <div><div></div><div></div></div>            |  |
| Morte induzida        | <div><div></div><div></div><div></div></div> |                        |                                   |                                   | <div><div></div><div></div><div></div></div> |                                   |                                   | <div><div></div><div></div><div></div></div> |                                   | <div><div></div><div></div><div></div></div> |                                   | <div><div></div><div></div><div></div></div> |  |

■ - Grupo I (Laserterapia)

● - Grupo II (Controle positivo - ausência de tratamento)

♦ - Grupo III (Controle negativo)

#### 4.5 Análise estatística dos resultados

Neste estudo, o tratamento com laser ou a ausência de tratamento dos animais submetidos à quimioterapia foram considerados variáveis independentes, influenciando ou não na severidade da mucosite induzida, considerada como variável dependente. Assim, de acordo com a proposição deste trabalho, as hipóteses testadas foram:

$H_0$ : o tratamento não exerce influência sobre a severidade da mucosite

$H_1$ : o tratamento exerce influência sobre a severidade da mucosite

Como a avaliação do grau da mucosite forneceu dados ordinais e compararam-se grupos independentes, o teste estatístico não-

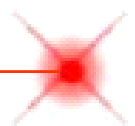
paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar se há diferenças entre os grupos experimentais.

A análise estatística foi realizada ao nível de significância de 5 % ( $\alpha = 0,05$ ) e após a rejeição da hipótese nula utilizou-se o teste de Mann-Whitney para identificar e comparar as diferenças entre pares de grupos.

A avaliação do grau de concordância intra-examinador para o método de classificação clínica da mucosite foi feita através do coeficiente Kappa (k).

Os escores representativos dos eventos histológicos determinados a partir da análise da reação tecidual foram submetidos aos mesmos testes descritos anteriormente (teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Mann-Whitney, o qual permitiu comparar dois a dois os materiais com o objetivo de se localizar as diferenças entre eles).

Resultado



## 5 Resultado

### 5.1 Avaliação clínica da mucosite

A classificação da mucosite foi realizada em dois momentos distintos por um único pesquisador, previamente calibrado. O teste Kappa mostrou haver alta concordância entre as duas avaliações (Tabela 4). O número de observações de cada escore clínico nos dois momentos avaliados está descrito na Tabela 5 (grupo I) e na Tabela 6 (grupo II).

Tabela 4 - Teste Kappa para avaliação da concordância entre a classificação da mucosite nos grupos I e II em momentos distintos

| Grupo                   | Medida de concordância Kappa |
|-------------------------|------------------------------|
| GI (Laserterapia)       | 0.807                        |
| GII (Controle positivo) | 0.847                        |

Tabela 5 - Frequências observadas para cada escore clínico nos dois momentos de avaliação do grupo I

| Momento 1 | Momento 2 |     |    |   | Total |
|-----------|-----------|-----|----|---|-------|
|           | 0         | 1   | 2  | 3 |       |
| 0         | 138       | 13  | 1  |   | 152   |
| 1         | 6         | 101 | 9  | 1 | 117   |
| 2         | 1         | 8   | 38 |   | 47    |
| 3         |           |     |    | 6 | 6     |
| Total     | 145       | 122 | 48 | 7 | 322   |

Tabela 6 - Frequências observadas para cada escore clínico nos dois momentos de avaliação do grupo II

| Momento 1    | Momento 2 |     |    |    |    |   | Total |
|--------------|-----------|-----|----|----|----|---|-------|
|              | 0         | 1   | 2  | 3  | 4  | 5 |       |
| 0            | 24        | 3   |    |    |    |   | 27    |
| 1            | 2         | 95  | 7  |    |    |   | 104   |
| 2            |           | 12  | 82 | 3  |    |   | 97    |
| 3            |           | 1   | 5  | 44 | 1  |   | 51    |
| 4            |           |     |    |    | 14 |   | 14    |
| 5            |           |     |    |    |    | 9 | 9     |
| <b>Total</b> | 26        | 111 | 94 | 47 | 15 | 9 | 302   |

O desenvolvimento de mucosite oral foi observado tanto no grupo experimental que recebeu tratamento com laser de baixa intensidade (grupo I), como no grupo controle positivo (grupo II), que passou pelo protocolo de indução de mucosite sem receber tratamento. Porém, o teste estatístico de Kruskal-Wallis mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ( $p= 0.0000$ ) referentes à classificação das alterações orais encontradas (Tabela 7 e Tabela 8). O resultado do teste de Dunn confirmou a diferença mostrada pelo teste de Kruskal-Wallis (Tabela 9 ).

Tabela 7 - Teste de Kruskal – Wallis para a classificação da mucosite

| Variável independente  | Graus de liberdade | Grau de significância |
|------------------------|--------------------|-----------------------|
| Tratamento da mucosite | 2                  | 0.0000*               |

\* Valor estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ )

Tabela 8 - Comparação dos dados por meio do teste de Kruskal – Wallis

| Grupos                                          | Posto médio | n   |
|-------------------------------------------------|-------------|-----|
| GI - Laser                                      | 286.837     | 322 |
| GII - Controle positivo                         | 477.9123    | 302 |
| GIII - Controle negativo                        | 129         | 10  |
| GRUPOS ESTATISTICAMENTE DIFERENTES (P = 0,0000) |             |     |

Tabela 9 - Comparação entre os postos médios dos grupos experimentais quanto ao grau da mucosite, de acordo com o Método de Dunn

| Comparações | Diferença entre os postos | Significância |
|-------------|---------------------------|---------------|
| GI x GII    | 191.0753                  | $p < 0.05^*$  |
| GI x GIII   | 157.837                   | $p < 0.05^*$  |
| GII x GIII  | 348.9123                  | $p < 0.05^*$  |

\*Diferença estatisticamente significativa

Os dados obtidos durante a classificação clínica da mucosa jugal dos animais estão apresentados nos anexos 2 e 3 e a estatística descritiva dos mesmos encontra-se na Tabela 10.

Considerando-se os escores relativos à severidade da mucosite oral determinados para todas as amostras avaliadas, a mucosite média dos grupos I e II é apresentada na Figura 9 e na Figura 10.

Tabela 10 - Análise descritiva dos dados referentes à classificação da mucosite

| Grupo                    | N   | Média | Mediana | Mínimo | Máximo | Desvio-padrão | Coef. de variação |
|--------------------------|-----|-------|---------|--------|--------|---------------|-------------------|
| GI (laser)               | 322 | 0.711 | 1       | 0      | 3      | 0.7817        | 110%              |
| GII (Controle positivo)  | 302 | 1.831 | 2       | 0      | 5      | 1.1388        | 62%               |
| GIII (Controle negativo) | 10  | 0     | 0       | 0      | 0      | 0             | 0                 |

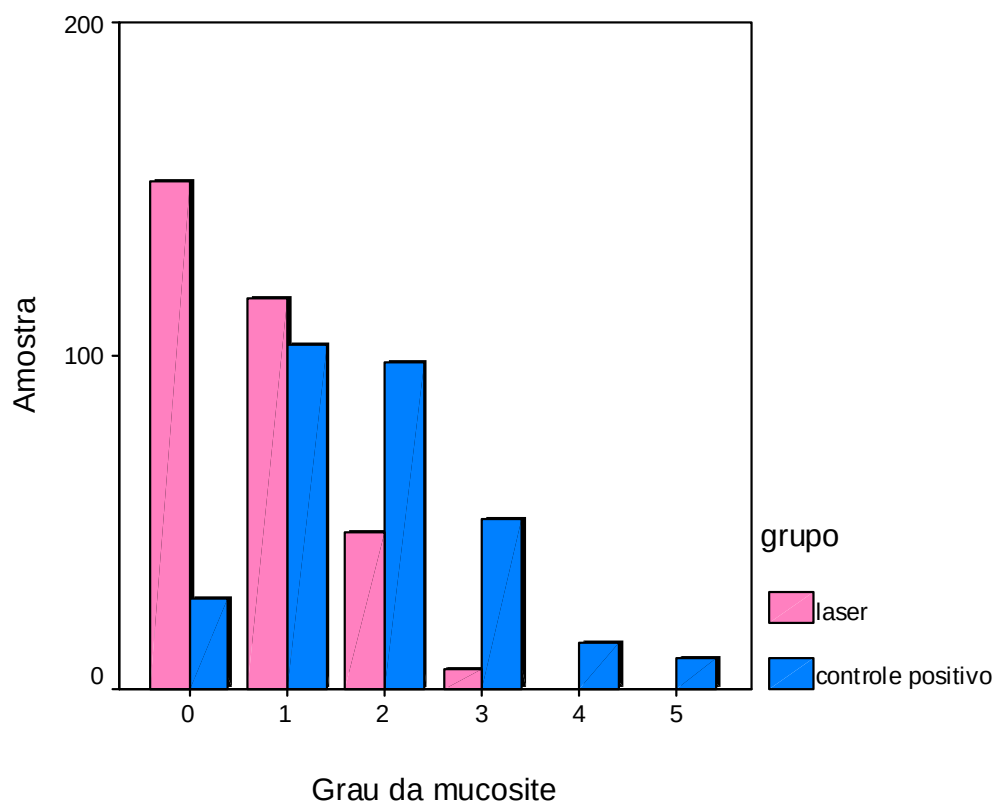


Figura 9 - Representação gráfica dos escores relativos à severidade da mucosite oral determinados para todas as amostras avaliadas

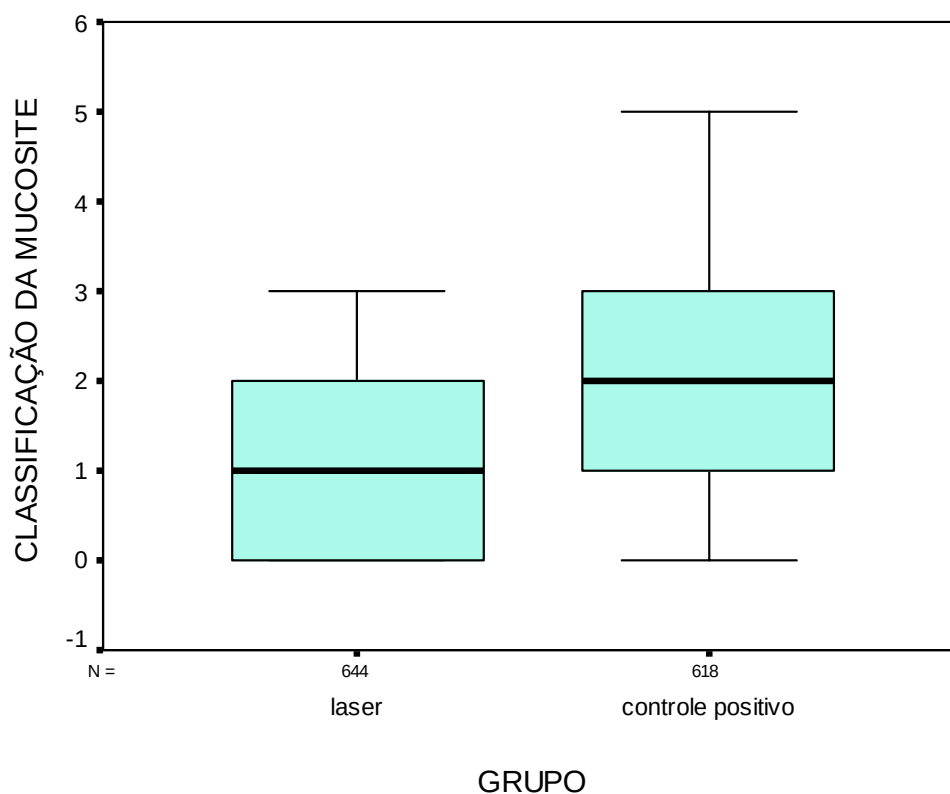


Figura 10 – Representação gráfica (Box-plot) dos escores relativos à severidade da mucosite oral determinados para todas as amostras avaliadas

A média diária da mucosite também foi calculada e é apresentada na Figura 11 e Tabela 11, onde se pode observar a presença de mucosite menos severa no grupo tratado com laser quando comparado com o controle positivo. O grau 3 de mucosite foi o escore máximo desenvolvido pelo grupo I, enquanto o grupo II desenvolveu mucosite grau 5, classificação representativa da severidade máxima (Tabela 12). No grupo controle negativo (grupo III), nenhuma alteração foi observada.

Tabela 11 - Média da mucosite ao longo dos dias experimentais

| GRUPO      | DIA  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14   | 15   |
| GI (Laser) | 1.04 | 1.23 | 0.98 | 0.87 | 0.63 | 0.40 | 0.25 | 0.15 | 0.15 | 0.20 | 0.10 | 0.10 |
| GII (CP)   | 1.00 | 1.53 | 1.84 | 2.03 | 2.39 | 2.41 | 2.73 | 2.61 | 2.39 | 0.88 | 0.50 | 0.25 |
| GIII (CN)  | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    |

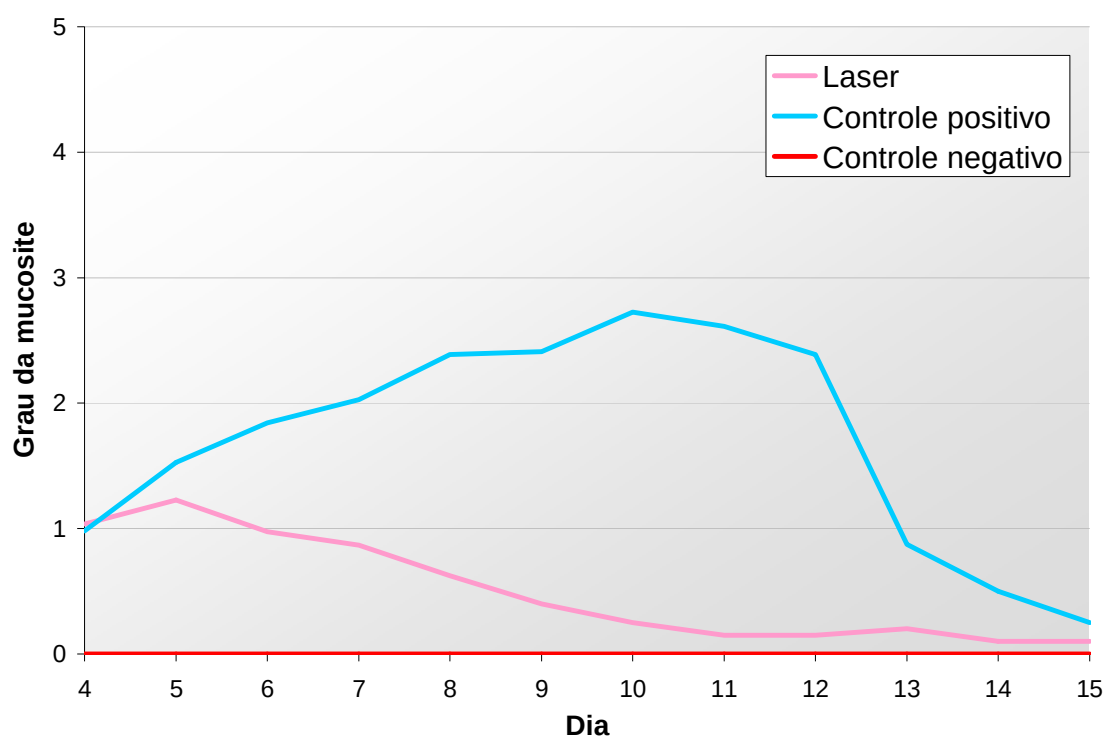


Figura 11 – Representação gráfica das médias referentes à classificação da mucosite dos grupos estudados ao longo dos dias experimentais

Tabela 12 - Grau máximo de mucosite ao longo dos dias experimentais

| GRUPO      | DIA |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
|------------|-----|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
|            | 4   | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| GI (Laser) | 2   | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3  | 3  | 3  | 2  | 1  | 1  |
| GII (CP)   | 2   | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 2  | 1  | 1  |
| GIII (CN)  | 0   | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |

Uma vez que o teste de Kruskal-Wallis demonstrou existir diferenças entre os grupos estudados, aplicou-se o teste de comparações múltiplas de Mann-Whitney para localizar as diferenças, considerando-se os grupos dois a dois. Os resultados deste teste estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Teste de Mann-Whitney para as comparações múltiplas, segundo a variável tratamento da mucosite

| Comparações | Mann-Whitney | Significância |
|-------------|--------------|---------------|
| GI x GII    | 0.000        | 0.000*        |
| GI x GIII   | 0.000        | 0.000*        |
| GII x GIII  | 0.000        | 0.000*        |

\* Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

Comparando-se o desenvolvimento da mucosite ao longo do período experimental entre os três grupos estudados por meio do teste de Kruskal-Wallis associado ao método de Dunn (Tabela 14), nota-se que a partir do dia 7 existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos I (Laserterapia) e grupo III (Controle negativo – ausência de

mucosite), o que indica a efetividade do laser em reduzir a severidade da mucosite.

Tabela 14 – Teste de Kruskal-Wallis associado ao método de Dunn para comparação do grau de mucosite entre os três grupos estudados em cada dia experimental

| GRUPOS            | DIAS |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-------------------|------|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
|                   | 4    | 5  | 6 | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| <b>GI x GII</b>   | NS   | NS | S | S  | S  | S  | S  | S  | S  | NS | NS | NS |
| <b>GI x GIII</b>  | S    | S  | S | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| <b>GII x GIII</b> | S    | S  | S | S  | S  | S  | S  | S  | S  | NS | NS | NS |

S: Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

NS: Diferença não significativa

A mucosite induzida durante o experimento apresentou características diversas, variando desde áreas com leve eritema (Figura 12 a, b, e) até presença de eritema severo (Figura 13 a, b, e), lesões ulceradas sobre grandes áreas de inflamação (Figura 12 f; Figura 13 f, g) e completa ulceração da mucosa jugal (Figura 13 h).

A partir das fotografias obtidas diariamente, nota-se que as características clínicas da mucosite e a sua classificação não diferem entre o grupo I e II no dia 4, (Figura 12 a, e; Figura 13 a, e). Ao longo do experimento, porém, os animais do Grupo II (Figura 12 f, g, h; Figura 13 f, g, h) desenvolveram mucosite mais severa quando comparados ao grupo I (Figura 12 b, c, d; Figura 13 b, c, d).





A Figura 14 e a Figura 15 representam o padrão de desenvolvimento da mucosite ao longo do período experimental nos grupos I e II.

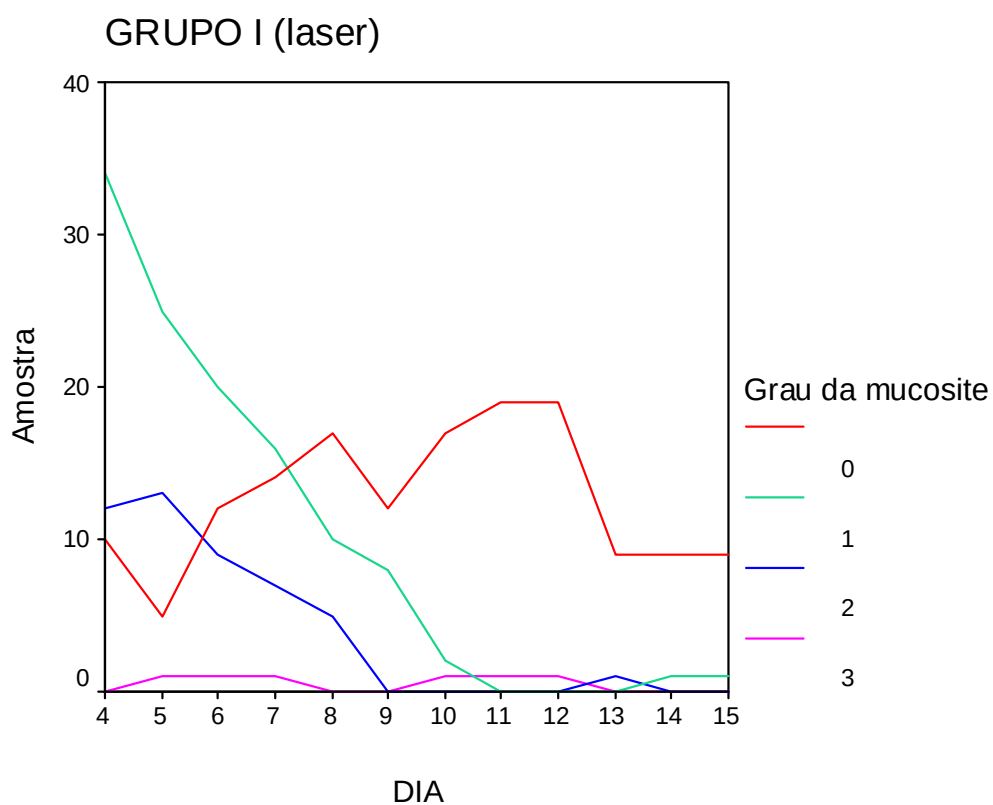


Figura 14 - Representação gráfica do desenvolvimento da mucosite representada pelos escores no grupo I

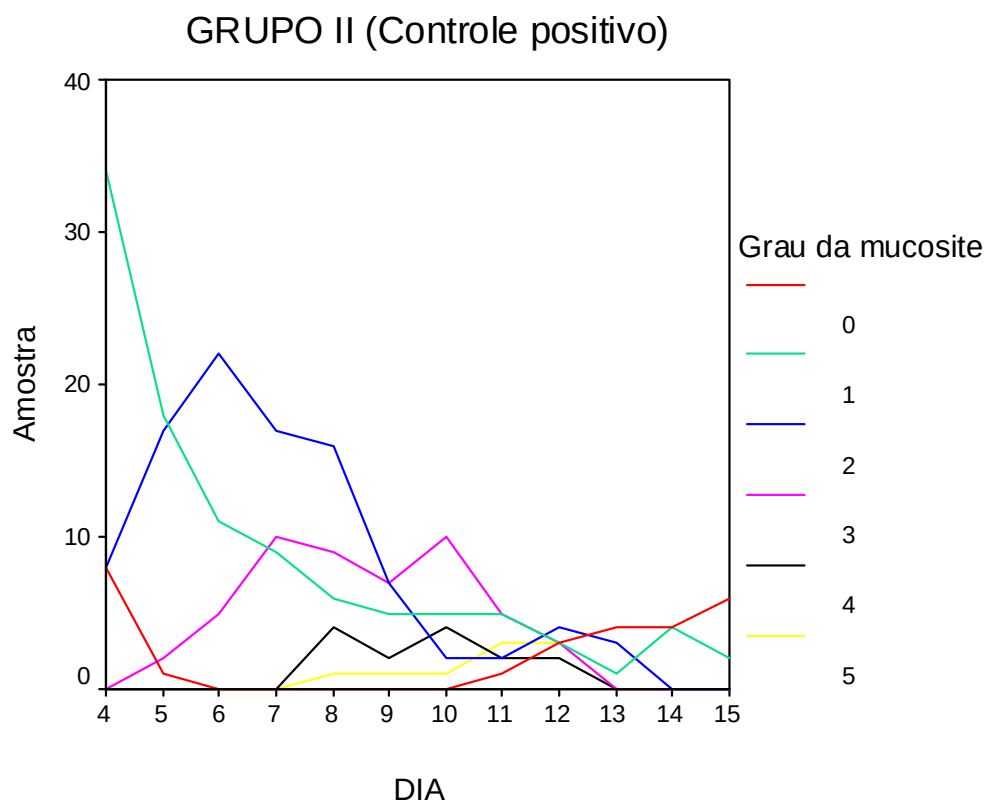


Figura 15 - Representação gráfica do desenvolvimento da mucosite representada pelos escores no grupo II

*Alterações de peso corporal*

Os animais dos grupos I e II apresentaram redução do peso corpóreo ao longo do período experimental (Tabela 15 e Figura 16), sendo essa redução de 16% e 19%, respectivamente, conforme apresentado na Tabela 16.

Tabela 15 – Comparação diária da média do peso corpóreo entre os grupos I e II

| DIA | GI (Laser) |          |          |       | GII (Controle positivo) |          |          |       |
|-----|------------|----------|----------|-------|-------------------------|----------|----------|-------|
|     | N          | Peso mín | Peso máx | Média | N                       | Peso mín | Peso máx | Média |
| 0   | 34         | 90       | 160      | 134.9 | 31                      | 100      | 160      | 129.4 |
| 1   | 28         | 90       | 150      | 127.1 | 25                      | 100      | 160      | 126.8 |
| 2   | 28         | 90       | 150      | 124.5 | 25                      | 100      | 160      | 124.6 |
| 3   | 28         | 90       | 150      | 120.7 | 25                      | 100      | 155      | 122.2 |
| 4   | 28         | 80       | 140      | 118.2 | 25                      | 100      | 145      | 120.6 |
| 5   | 22         | 90       | 130      | 114.1 | 19                      | 90       | 140      | 117.6 |
| 6   | 21         | 95       | 130      | 114.5 | 19                      | 90       | 130      | 113.4 |
| 7   | 19         | 90       | 130      | 110.5 | 18                      | 90       | 130      | 111.4 |
| 8   | 16         | 90       | 125      | 109.4 | 18                      | 80       | 125      | 105.6 |
| 9   | 10         | 90       | 125      | 110.0 | 11                      | 80       | 120      | 101.8 |
| 10  | 10         | 90       | 120      | 107.0 | 11                      | 80       | 120      | 99.5  |
| 11  | 10         | 90       | 120      | 104.5 | 9                       | 70       | 120      | 98.3  |
| 12  | 10         | 90       | 120      | 109.5 | 9                       | 70       | 120      | 96.7  |
| 13  | 5          | 100      | 120      | 111.0 | 4                       | 100      | 120      | 107.5 |
| 14  | 5          | 100      | 120      | 112.0 | 4                       | 100      | 115      | 107.5 |
| 15  | 5          | 100      | 120      | 113.0 | 4                       | 100      | 110      | 105.0 |

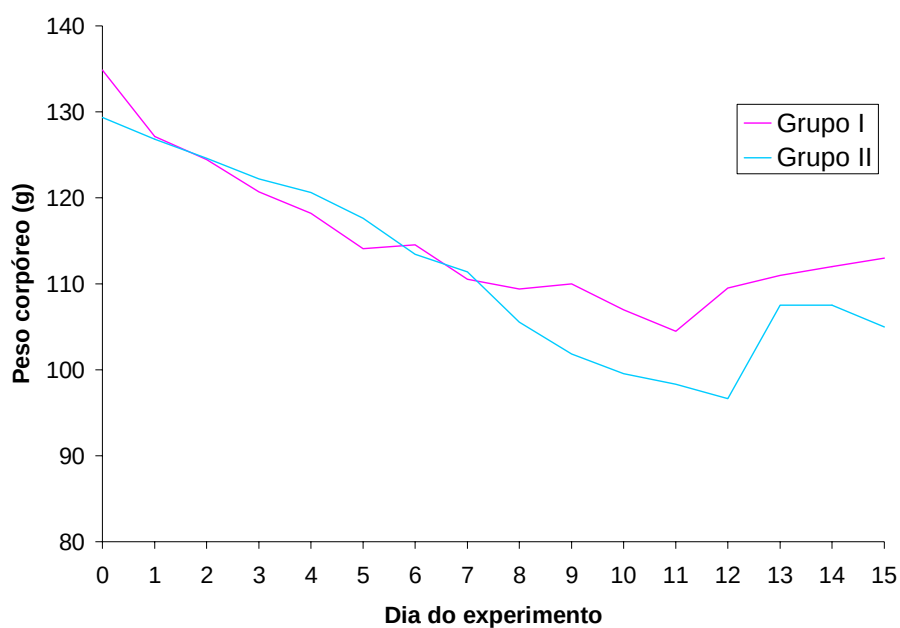


Figura 16 – Representação gráfica da redução do peso corpóreo dos hamsters ao longo do experimento

Tabela 16 – Redução do peso corpóreo dos animais ao final do experimento

| Grupo | Redução de peso |
|-------|-----------------|
| GI    | 16%             |
| GII   | 19%             |

### *Taxa de mortalidade*

Nos grupos I e II o protocolo de indução de mucosite provocou mortalidade de 20% e 15%, respectivamente.

## 5.2 Avaliação histopatológica da mucosite

A análise estatística descritiva dos achados histopatológicos do grupo I e II é mostrada na Tabela 17 e na Tabela 18.

No grupo I (laserterapia), foram avaliados 56 espécimes ao longo do experimento e o escore 0, representativo de ausência de inflamação, foi predominante, sendo atribuído a 35 espécimes (Figura 17 c, d, g). Os demais 21 espécimes foram classificados como escore 1, representando inflamação discreta (Figura 17 a, b, e, f).

No grupo II (controle positivo), foram avaliados 50 espécimes, sendo 20 classificados como escore 0; 14 como escore 1 (Figura 18 a); 6 como escore 2 (Figura 18 b); 5 como escore 3 (Figura 18 c, d) e 5 como escore 4 (Figura 18 e, f, g, h).

No grupo III (controle negativo), os tecidos epitelial e conjuntivo exibiram características histológicas de normalidade. O epitélio apresentou-se contínuo, com camada basal íntegra e camada de ceratina delgada como revestimento externo. O tecido conjuntivo subjacente exibiu equilíbrio entre componentes de matriz extracelular e células, sendo notável a presença de tecido muscular íntegro no local (Figura 19 a, b, c). Estes achados histológicos foram representativos das características clínicas determinadas para todos os espécimes deste grupo (Figura 19 d).

---







O teste de Kruskal-Wallis demonstrou haver diferenças entre os grupos estudados ( $p = 0,000$ ). Para localizar as diferenças, aplicou-se o teste de Mann-Whitney, que revelou diferenças estatisticamente significantes entre todas as comparações observadas (Tabela 19). Quando os grupos foram comparados em cada período experimental (Tabela 20), verifica-se que até o dia 4 do experimento as características histopatológicas dos grupos I e II são similares ( $p > 0,05$ ). Entre os dias 8 e 12, constata-se a diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ( $p < 0,05$ ), sendo esse o período de pico da mucosite no grupo II, tanto histopatologicamente como também clinicamente. A partir do dia 12 do experimento inicia-se o processo de reparação tecidual e os escores dos grupos I e II tornam-se novamente estatisticamente similares ( $p > 0,05$ ). Quando se comparam o grupo I e o grupo III, verifica-se que existe diferença estatisticamente significativa apenas no dia 4 e desta maneira, o grupo que recebeu tratamento com laser de baixa intensidade apresentou escore histopatológico similar ao do grupo controle negativo nos dias 0, 8, 12 e 15.

Tabela 19 – Teste de Mann-Whitney para as comparações múltiplas, segundo a variável tratamento

| Comparações | Mann-Whitney | Significância |
|-------------|--------------|---------------|
| GI x GII    | 0.001        | 0.000*        |
| GI x GIII   | 0.020        | 0.000*        |
| GII x GIII  | 0.001        | 0.000*        |

\* Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

Tabela 20 - Teste de Mann-Whitney para as comparações múltiplas, segundo a variável tratamento, em cada período experimental

| Comparações | Dias |    |    |    |    |
|-------------|------|----|----|----|----|
|             | 0    | 4  | 8  | 12 | 15 |
| GI x GII    | NS   | NS | S  | S  | NS |
| GI x GIII   | NS   | S  | NS | NS | NS |
| GII x GIII  | NS   | S  | S  | S  | NS |

S: Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

NS: Diferença não significativa ( $p > 0,05$ )

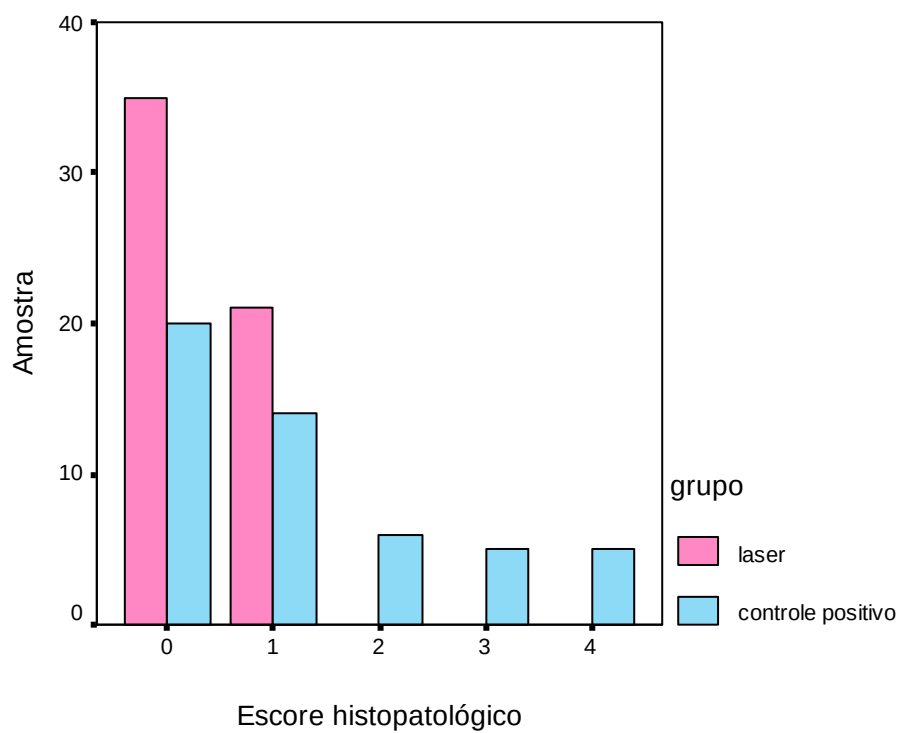
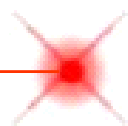


Figura 20 - Representação gráfica dos escores histopatológicos de acordo com o grupo estudado

Discussão



## 6 Discussão

A mucosite oral induzida por quimioterapia é uma alteração inflamatória decorrente dos efeitos tóxicos provocados pelos tratamentos antineoplásicos, os quais freqüentemente levam ao desenvolvimento de lesões ulcerativas na cavidade oral e causam desconforto e dor severa ao paciente. Os agentes quimioterápicos agem diretamente no epitélio oral e reduzem sua taxa de *turn over* ou divisão celular, o que resulta em atrofia e ulceração local (GUGGEINHEIMER et al.<sup>32</sup>, 1977; SONIS<sup>68</sup>, 1998; SONIS et al.<sup>78</sup>, 2000; SQUIER e KREMER<sup>83</sup>, 2001).

Apesar da importância clínica dessa complicação, poucos estudos têm sido feitos com o objetivo de replicar a mucosite em animais de laboratório para testar tratamentos capazes de prevenir e reduzir sua severidade<sup>13, 14, 54, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76, 78, 79, 49</sup>, sendo que a efetividade do laser de baixa intensidade não foi avaliada até o momento, o que representou um incentivo para a realização deste trabalho.

Optou-se por induzir mucosite em hamsters utilizando-se quimioterapia, por ser um protocolo simples, rápido e já estabelecido na literatura (SONIS et al.<sup>69</sup>, 1990). Utilizou-se o agente quimioterápico 5-fluoruracila, sendo este fármaco freqüentemente utilizado em tumores de cabeça e pescoço e em neoplasias hematológicas. A quimioterapia realizada com 5-FU tem duração prolongada, o que provoca grande

toxicidade e facilita o desenvolvimento rápido de mucosite e de mielossupressão, já que o fármaco também tem ação sobre as células da medula óssea que apresentam rápida divisão celular<sup>8, 42, 63</sup>.

O uso de hamsters baseou-se no modelo experimental desenvolvido por Sonis et al.<sup>69</sup>, em 1990. Esses animais foram selecionados por apresentarem uma mucosa jugal volumosa e elástica, o que facilita sua observação e a realização dos procedimentos experimentais. A dose e o esquema quimioterápico apresentado foi estabelecido a partir de observação de estudos conduzidos previamente e após a realização de estudo piloto.

A escarificação da mucosa jugal foi realizada com um dispositivo confeccionado com fio ortodôntico, com largura suficiente para arranhar a região central da mucosa. Encontram-se, na literatura, diversas maneiras de realizar a escarificação da mucosa, dentre elas a utilização de agulhas<sup>69, 49</sup> e de fresas em baixa rotação<sup>54</sup>. No presente estudo, considerou-se a importância da padronização da área escarificada e da força utilizada, sendo esse procedimento realizado por um único operador.

O protocolo utilizado foi bem-sucedido na indução de mucosite oral em hamsters. Da mesma maneira vista em humanos, alterações na mucosa jugal dos animais puderam ser observadas entre 5 e 7 dias após a administração do agente quimioterápico e a mucosite

apresentou seu pico entre os dias 8 e 12 do experimento, o que está de acordo com estudos descritos anteriormente<sup>54,69,75</sup>.

A utilização do laser terapêutico no tratamento da mucosite ainda não está bem estabelecida, uma vez que existem poucos estudos na literatura (POURREAU-SCHNEIDER et al.<sup>60</sup>, 1992; BARASCH et al.<sup>4</sup>, 1995; COWEN et al.<sup>18</sup>, 1997, MIGLIORATI et al.<sup>53</sup>, 2001; BENSADOUN et al.<sup>7</sup>, 1999; BENSADOUN e CIAIS<sup>6</sup>, 2002, HAMME et al.<sup>89</sup>, 2003) e os parâmetros a serem utilizados variam nas pesquisas encontradas.

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura utilizou o laser de He-Ne para o tratamento da mucosite e encontraram resultados positivos. Migliorati et al.<sup>53</sup>, em 2001 e Eduardo et al.<sup>25</sup>, em 2004, utilizaram laser de diodo de AsGaAl e concluíram que o tratamento reduziu a severidade da mucosite em humanos.

Em nosso estudo utilizamos o laser terapêutico contendo como meio ativo InGaAlP, que produz luz com comprimento de onda variando entre 635 e 690 nm. A luz gerada por esse tipo de emissor tem as mesmas características do laser de He-Ne, sendo que ambos trabalham com baixa intensidade de energia e apresentam as mesmas indicações: tratamento de lesões de diversas origens, regeneração nervosa e cicatrização de feridas abertas, dentre outras (ALMEIDA-LOPES e MASSINI<sup>2</sup>, 2001; EDUARDO et al.<sup>24</sup>, 2002; GUTKNECHT e EDUARDO<sup>33</sup>, 2004).

A escolha da densidade de energia de 12 J/cm<sup>2</sup> utilizada neste trabalho baseou-se nos achados de pesquisas conduzidas previamente e nas recomendações dadas pelo fabricante do aparelho de laser. Na literatura, não existe uma padronização da densidade de energia ideal para o tratamento da mucosite, podendo ser encontradas densidades de energia de 1 J/cm<sup>2</sup> a 4 J/cm<sup>2</sup>. Apesar dessa variação, os benefícios na redução da mucosite foram semelhantes nos estudos realizados<sup>4,6,18,89,53</sup>. Porém, seria importante o estabelecimento de um protocolo de uso para o laser de baixa intensidade no tratamento da mucosite.

No presente estudo, o grupo tratado com laser de baixa intensidade desenvolveu mucosite menos severa quando comparado ao grupo não tratado ( $p < 0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 10, estando estes achados de acordo com os estudos realizados previamente<sup>4, 6, 7, 18, 25, 89, 53, 60</sup>.

Avaliando-se o desenvolvimento da mucosite ao longo do período experimental (Tabela 11 e Tabela 14), verifica-se que o laser permitiu a redução das alterações orais e, a partir do dia 7 do experimento, não houve diferença estatisticamente significativa entre o Grupo I, que recebeu tratamento, e o Grupo III, controle íntegro ( $p < 0,05$ ).

A avaliação histopatológica da mucosite também mostrou diferenças estatisticamente significantes entre o Grupo I e o Grupo II. O escore máximo desenvolvido pelos animais irradiados com laser foi o

escore 1 (Figura 17 a, b, e, f, g), representando inflamação discreta. O grupo não tratado desenvolveu o escore 3 (inflamação moderada) a partir do dia 4 do experimento e escore 4 (inflamação severa) e 5 (formação de abscesso) e a partir do dia 8 (Figura 18).

Os achados histológicos tardios, como a presença de franca ulceração (Figura 18 e, f, g) estão correlacionados com a presença de ulceração e necrose clinicamente (Figura 13 f, g, h). O colapso do tecido epitelial é uma consequência da estomatotoxicidade direta, sendo acelerada pela irritação local. A avaliação histopatológica demonstrou a presença de microrganismos no tecido conjuntivo subjacente às úlceras (Figura 18 h), o que está de acordo com os achados de Sonis et al.<sup>69</sup> (1990) e Morvan et al.<sup>54</sup> (2004). Estes achados reafirmam que a perda da integridade do epitélio oral facilita a instalação de quadro infeccioso, representando uma porta de entrada para os microrganismos nos pacientes que recebem quimioterapia.

Diversos estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram os efeitos benéficos da irradiação com laser de baixa intensidade, dentre eles a proliferação de fibroblastos<sup>3, 44, 45, 46</sup>, estimulação da síntese de colágeno<sup>59, 61</sup>, liberação de fatores de crescimento, inibição da produção de citocinas inflamatórias<sup>55, 64, 67</sup>, estimulação da cicatrização de úlceras, feridas e queimaduras<sup>29, 30, 31, 62, 65, 86</sup> e controle da dor e dos processos inflamatórios<sup>36, 62, 64</sup>.

A laserterapia não influenciou no peso dos animais e os dois grupos que receberam 5-FU (GI e GII) apresentaram redução do peso ao longo dos dias, com uma pequena recuperação a partir do dia 11 (Figura 16).

A irradiação com laser de baixa intensidade também não influenciou a taxa de mortalidade do grupo tratado (20%), que foi levemente maior que a do grupo não-tratado (15%). Esses valores são considerados aceitáveis na literatura e Sonis et al.<sup>75</sup> (1997) observaram 30 a 35% de mortalidade usando 60mg/Kg de 5-FU nos dias 0 e 2, enquanto que Clarke et al.<sup>14</sup> (2002) observaram 3,1% de mortalidade quando usaram 90 e 60 mg/Kg de 5-FU.

A taxa de mortalidade pode estar relacionada não apenas à dose de 5-FU administrada, mas também aos procedimentos anestésicos, requeridos para aplicação do laser e para as tomadas fotográficas. Os animais do Grupo I foram anestesiados diariamente, a partir do dia 0 do experimento, enquanto que os animais do grupo controle positivo foram anestesiados apenas a partir do dia 4, para que pudessem ser fotografados, o que poderia explicar a menor taxa de mortalidade.

O protocolo para a realização da anestesia utilizado neste estudo seguiu as recomendações do Guia de Experimentação Animal do Conselho Canadense de Proteção ao Animal (CCAC)<sup>56</sup> e consistiu na utilização do anestésico geral dissociativo ketamina que produz anestesia

caracterizada por rigidez muscular e torna o animal alheio ao ambiente externo, associado ao sedativo e relaxante muscular xilazina, o que é recomendado para melhorar a analgesia e reduzir o tônus muscular (GAERTNER et al.<sup>28</sup>, 1987). Os olhos dos animais permanecem abertos durante o período de anestesia, o que requer cuidados com sua lubrificação, sendo utilizadas compressas de gaze com soro fisiológico durante os procedimentos experimentais. A administração intramuscular deste tipo de anestesia também é contra-indicada em hamsters pela possibilidade de provocar necrose muscular, sendo neste estudo usada a via intraperitoneal.

Alguns estudos utilizam anestésicos inalatórios como os agentes voláteis derivados de éter (dietil éter, isoflurano, entre outros) (SONIS et al.<sup>75</sup>, 1997; CLARKE et al.<sup>14</sup>, 2002). Esses agentes têm a vantagem de requerer mínima metabolização pelo organismo, uma vez que são exalados pelo pulmão e o nível de anestesia pode ser facilmente e rapidamente controlado. No entanto, para utilização desses agentes voláteis há necessidade de infra-estrutura e equipamentos especiais para sua administração e para sua eliminação do ambiente, além de constante monitoramento dos animais. Além disso, alguns agentes são inflamáveis e irritantes aos tecidos, podendo trazer riscos à saúde do pesquisador.

Ainda não existem protocolos estabelecidos nem recomendações específicas para tratar a mucosite oral e prevenir seu

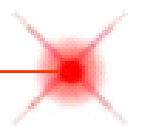
desenvolvimento. As intervenções disponíveis buscam controlar os sintomas e as complicações decorrentes da mucosite.

A utilização do laser de baixa intensidade apresentou resultados positivos no presente estudo e representa mais uma alternativa terapêutica a ser empregada para reduzir a severidade da mucosite e melhorar a qualidade de vida dos pacientes durante o tratamento oncológico.

Os estudos nesta área ainda são escassos e muitos deles, ainda, devem ser avaliados com cautela devido à existência de problemas no delineamento experimental, como ausência de descrição dos métodos de aleatorização dos pacientes e tamanho inadequado da amostra. Esses fatores podem interferir no poder estatístico para detectar efeitos clínicos relevantes. Associa-se a isso problemas resultantes da existência de diversos parâmetros para a utilização do laser, o que dificulta a comparação dos resultados, já que estes dependem do comprimento de onda, do pulso, da irradiância, da densidade de energia, da potência do aparelho e do tempo de tratamento<sup>16,50</sup>.

Mais estudos devem ser conduzidos para avaliar os efeitos da laserterapia no tratamento da mucosite oral e permitir seu entendimento, buscando utilizar parâmetros padronizados, tamanho amostral adequado e instrumentos de medida válidos, para que a comparação entre seus resultados conduzam a conclusões relevantes.

Conclusão

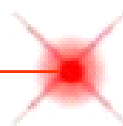


## **7 Conclusão**

O laser terapêutico com comprimento de onda de 685 nm, meio ativo de InGaAlP e densidade de energia de 12 J/cm<sup>2</sup> promoveu a redução da severidade da mucosite induzida em hamsters e acelerou a cura das lesões orais. Os efeitos benéficos da laserterapia foram observados tanto na avaliação clínica como na avaliação histopatológica da mucosite.

A utilização do laser terapêutico a partir do primeiro dia da administração do agente quimioterápico (5-FU) não foi efetiva para prevenir o surgimento da mucosite oral nos animais.

## Referências



## 8 Referências\*

- 1 ABT, E. Bioestimulation and photodynamic therapy In: MESERENDINO, L.P.; PICK, R.M. **Laser in dentistry**. Chicago: Ed. Quintessence Publ., 1995. cap. 1, p. 17-25.
- 2 ALMEIDA-LOPES, L.; MASSINI, R.J. **Laseres e suas aplicações. Manual do usuário**. São Carlos: DMC Equipamentos, 2001.
- 3 ALMEIDA-LOPES, L.; RIGAU, J.; ZANGARO, R.A.; GUIDUGLI-NETO, J.; JAEGER, M.M. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.29, n.2, p.179-184, Aug. 2001.
- 4 BARASCH, A.; PETERSON, D.E. Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: unanswered questions. **Oral Oncol.**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 91-100, Feb. 2003.
- 5 BARASCH, A.; PETERSON, D.E.; TANZER, J.M.; D'AMBROSIO, J.A.; NUKI, K.; SCHUBERT, M.M.; FRANQUIN, J.C.; CLIVE, J.; TUTSCHKA, P. Helium-Neon laser effects on conditioning - induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients. **Cancer**, New York, v. 76, n. 12, p. 2550-2556, Dec. 1995.
- 6 BENSADOUN, R.J.; CIAIS, G. Radiation and chemotherapy-induced mucositis in oncology: results of multicenter phase III studies. **J. Oral Laser Applications**, London, v. 2, n. 2, p. 115-120, July. 2002.

---

\* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023** : informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

- 7 BENSADOUN, R.J.; FRANQUIN, J.C.; CIAIS, G.; DAR COURT, V.; SCHUBERT, M.M.; VIOT, M.; DEJOU, J.; TARDIEU, C.; BENEZERY, K.; NGUYEN, T.D.; LAUDOYER, Y.; DASSONVILLE, O.; POISSONNET, G.; VALLICIONI, J.; THYSS, A.; HAMDI, M.; CHAUVEL, P.; DEMARD, F. Low-energy He/Ne laser in the prevention of radiation-induced mucositis. A multicenter phase III randomized study in patients with head and neck cancer. **Support. Care Cancer**, Berlin, v.7, n.4, p. 244 – 252, June. 1999.
- 8 BENSADOUN, R.J.; MAGNE, N.; MARCY, P.Y.; DEMARD, F. Chemotherapy and radiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer patients: new trends in pathophysiology, prevention and treatment. **Eur. Arch. Otorhinolaryngol.**, Berlin, v. 258, n. 9, p. 481-487, Nov. 2001.
- 9 CARL, W. Bone marrow transplants ad oral complications. **Quintessence Int.**, Berlin, n.10, p.1001-1009, Oct. 1984.
- 10 CHENG, K.K.F.; MOLASSIOTIS, A.; CHANG, A.M.; WAI, W.C.; CHEUNG, S.S. Evaluation of an oral care protocol intervention in the prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in paediatric cancer patients. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 37, n.16, p. 2056-2063, Nov.2001.
- 11 CHENG, K.K.F.; CHANG, A.M.; YUEN, M.P. Prevention of oral mucositis in paediatric patients treated with chemotherapy: a randomized crossover trial comparing two protocols of oral care. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 40, n.8, p. 1208-1216, May, 2004
- 12 CHENG, K.K.F.; MOLASSIOTIS, A.; CHANG, A.M. An oral care protocol intervention to prevent chemotherapy-induced oral mucositis in paediatric cancer patients: a pilot study. **Eur. J. Oncol. Nurs.**, Edinburgh, v.6, n. 2, p. 66-73, June. 2002.

- 13 CLARKE, J.; EDWARDS, B.; SRPEK, L.; REGESTER, G. Evaluation of bovine lactoferrin as a topical therapy for chemotherapy-induced mucositis in the Golden Syrian hamster. **Oral Oncol.**, Oxford, v.35, n.2, p.197-202, March.1999.
- 14 CLARKE, J.; BUTLER, R.; HOWARTH, G.; READ, L.; REGESTER, G. Exposure of oral mucosa to bioactive milk factors reduces severity of chemotherapy-induced mucositis in the hamster. **Oral Oncol.**, Oxford, v. 38, n. 8, p. 478-485. July. 2002.
- 15 CLARKSON, J.E.; WORTHINGTON, H.V.; EDEN, O.B. Interventions for preventing oral mucositis or oral candidiasis for patients with cancer receiving chemotherapy (excluding head and neck cancer). **Cochrane Database Syst. Rev.**, n. 2, p. CD000978, 2000.
- 16 CONLAN, M.J.; RAPLEY, J.W.; COBB, C.M. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 23, n. 5, p. 492-496, May, 1996
- 17 COSTA, E.M.M.B.; FERNANDES, M.Z.; QUINDERÉ, L.B.; SOUZA, L.B.; PINTO, L.P. Evaluation of an oral preventive protocol in children with acute lymphoblastic leukemia. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v.17, n.2, p.147-150. Abr./Jun, 2003.
- 18 COWEN, D.; TARDIEU, C.; SCHUBERT, M.; PETERSON, D.; RESBEUT, M.; FAUCHER, C.; FRANQUIN, J.C. Low energy helium-neon laser in the prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplant: results of a double blind randomized trial. **Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.**, Elmsford, v. 38, n. 4, p. 697-703, July. 1997.
- 19 DODD, M.J.; LARSON, P.J.; DIBBLE, S.L.; MIASKOWSKI, C.; GREENSPAN, D.; MacPHAIL, L.; HAUCK, W.W.; PAUL, S.M.; IGNOFFO, R.; SHIBA, G. Randomized clinical trial of chlorhexidine

- versus placebo for prevention of oral mucositis in patients receiving chemotherapy. **Oncology Nursery Forum.**, New York, v. 23, n. 6. p. 921-927, 1996.
- 20 DODD, M.J.; DIBBLE, S.L.; MIASKOWSKI, C.; MacPHAIL, L.; GREENSPAN, D.; PAUL, S.M.; SHIBA, G.; LARSON, P.J. Randomized clinical trial of the effectiveness of 3 commonly used mouthwashes to treat chemotherapy-induced mucositis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v. 90, n. 1, p. 39-47, July, 2000.
- 21 DODD, M.J.; DIBBLE, S.L.; MIASKOWSKI, C.; PAUL, S.; CHO, M.; MacPHAIL, L.; LARSON, P.J.; GREENSPAN, D.; SHIBA, G. A comparison of the affective state and quality of life of chemotherapy patients who do and do not develop chemotherapy-induced oral mucositis. **J. Pain Symptom Manage**, New York, v. 21, n. 6, p. 498-505, June. 2001.
- 22 DONNELLY, J.P.; BLIJLEVEN, N.M.A.; VERHAGEN, C.A.H. Can anything be done about oral mucositis? **Ann. Oncol.**, London, v.14, n. 4, p.505-507, Apr. 2003.
- 23 DUNCAN, M.; GRANT, G. Review article: oral and intestinal mucositis – causes and possible treatments. **Aliment Pharmacol. Ther.**, Oxford, v.18, p. 853-874. 2003.
- 24 EDUARDO, C.P.; GOUW-SOARES, S.; HAYPEK, P. Utilização clínica dos lasers. In: CARDOSO, R.J.A.; GONÇALVES, E.A.N. **Dentística/laser**. São Paulo: Artes Médicas, 2002. cap. 23, p. 442-461.
- 25 EDUARDO, F.P.; NICOLLI FILHO, W.; MIGLIORATI, C.A.; ZECELL, D.M.; EDUARDO, C.P.; SCHUBERT, M.M. Effects of low intensity laser radiation in the prevention of oral mucositis in

- patients undergoing bone marrow transplants. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.15, p. 97, 2004. Abstract.
- 26 EPSTEIN, J.B.; SCHUBERT, M.M. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v. 88, n. 3, p. 273-276, Sept. 1999.
- 27 EPSTEIN, J.B.; TSANG, A.H.; WARKENTIN, D.; SHIP, J.A. The role of salivary function in modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St Louis, v. 94, n. 1, p. 39-44, July. 2002.
- 28 GAERTNER, D.J.; BOSCHERT, K.R.; SCHOEB, T.R. Muscle necrosis in Syrian hamsters resulting from intramuscular injections of ketamine and xylazine. **Lab. Anim. Sci.**, Memphis, v.37, p.80-83. 1987.
- 29 GARCIA, V.G.; OKAMOTO, T.; KINA, J.R. Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo histológico em ratos. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo. v. 25, n. 1, p. 37-48, jan./jun. 1996.
- 30 GARCIA, V.G.; THEODORO, L.H.; COLMAN, L.S.; FONSECA, R.G.; OKAMOTO, T. Influência do número de aplicações de raio laser de bioestimulação sobre a reparação de feridas de extração dentária. Estudo histológico em ratos. **Rev. Facul. Odontol. Lins**, Lins, v.12, n. 1, p. 29-37, jan./dez. 2000.
- 31 GARCIA, V.G.; OKAMOTO, T.; THEODORO, L.H.; MILANEZI, L.A.; GARCIA, J.L. Processo de reparo em feridas de extração dental tratadas com laser de baixa intensidade (904 nm), com diferentes energias de irradiação. Estudo histológico em ratos. **Rev. Facul. Odontol. Lins**, Lins, v.13, n. 2, p. 27-34, jul./dez. 2001.

- 32 GUGGENHEIMER, J.; VERBIN, R.S.; APPEL, B.N.; SCHMUTZ, J. Clinicopathologic effects of cancer chemotherapeutic agents on human buccal mucosa. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 44, n.1, p. 58-63, 1977.
- 33 GUTKNECHT, N.; EDUARDO, C.P. **A odontologia e o laser.** Atuação do laser na especialidade odontológica. 1 Ed. São Paulo: Quintessence Editora. 2004.
- 34 HARRIS, D.M. Biomolecular mechanisms of laser bioestimulation. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, p. 277-280. Aug, 1991.
- 35 HEJNA, M.; KOSTLER, W.J.; RADERER, M.; STEGER, G.G.; BRODOWICZ, T.; SCHEITHAUER, W.; WILTSCHKE, C.; ZIELINSKI, C.C. Decrease of duration and symptoms in chemotherapy-induced oral mucositis by topical GM-CSF: results of a prospective randomised trial. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v.37, p. 1994-2002. 2001.
- 36 HONMURA, A.; YANASE, M.; OBATA, J.; HARUKI, E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.12, n.4, p. 441-449. 1992.
- 37 INNOCENTI, F.; RATAIN, M.J. Update on pharmacogenetics in cancer chemotherapy. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v.38,p. 639-644, 2002.
- 38 KARU, T. Photobiology of low-power laser effects. **Healthy Phys.** Baltimore. v. 56, n. 5, p. 691-704. May. 1989.
- 39 KARU, T.; PYATIBRAT, L.; KALENDO, G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. **J Photochem Photobiol B.**, Lausanne, v.27, n.3, p. 219-223, Mar 1995.

- 40 KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **J. Photochem. Photobiol. B: Biol.**, Lausanne, v. 49, n.1, p. 1-17, Mar.1999.
- 41 KARU, T.I. Low power laser therapy. In:\_\_\_\_\_. **Biomedical Photonics Handbook**. 1 ed. Florida: CRC Press, 2003. Cap. 48, p. 48:1-48:20.
- 42 KAWASAKI, G.; YOSHITOMI, I.; YANAMOTO, S.; MIZUNO, A. Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase expression in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical and clinicopathologic study. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 94, n.6, p. 717-723, Dec. 2002.
- 43 KNOX, J.J.; PUODZIUNAS, A.L.V.; FELD, R. Chemotherapy-induced oral mucositis. Prevention and management. **Drugs and Aging**, Auckland, v. 14, n. 4, p. 257-267, Oct. 2000.
- 44 KOUTNÁ, M.; JANISCH, R.; VESELSKÁ, R. Effects of low-power laser irradiation on cell proliferation. **Scripta Medica**, Brno, v.76, n. 3, p. 163-172, June. 2003.
- 45 KREISLER, M.; CHRISTOFFERS, A.B.; AL-HAJ, H.; WILLERSHAUSEN, B.; D'HOEDT, B. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 30, n. 5, p.365-369, June. 2002.
- 46 KREISLER, M.; CHRISTOFFERS, A.B.; WILLERSHAUSEN, B.; D'HOEDT, B. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.30, n. 4, p. 353-358, Apr. 2003.

- 47 KWONG, K.K.F. Prevention and treatment of oropharyngeal mucositis following cancer therapy. Are there new approaches? **Cancer Nurs.**, New York, v. 27, n. 3, p. 183-205. 2004.
- 48 LAGAN KM, CLEMENTS BA, MCDONOUGH S, BAXTER GD. Low intensity laser therapy (830nm) in the management of minor postsurgical wounds: a controlled clinical study. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.28, n.1, p.27-32, Dec. 2001.
- 49 LOURY,D.J.; EMBREE, J.R.; STEINBERG, D.A.; SONIS, S.T.; FIDDES, J.C. Effect of local application of the antimicrobial peptide IB-357 on the incidence and severity of oral mucositis in hamsters. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St Louis, v. 87, n. 5, p. 544-551, May. 1999.
- 50 LUCAS, C.; STANBOROUGH, C.L.; FREEMAN, C.L.; De HAAN, R.J. Efficacy of low-level laser therapy on wound healing in human subjects: a systematic review. **Lasers Med. Sci.**, London, v.14, p. 84-93. 2000.
- 51 McGUIRE, D. Mucosal tissue injury in cancer therapy: more than mucositis and mouthwashes. **Cancer Practice**, Philadelphia, v.10, n.4, p. 179-191. 2002.
- 52 MESTER, E.; MESTER, A.F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Laser Surg. Med.**, New York, v.5, p. 31-39. 1985.
- 53 MIGLIORATI, C.; MASSUMOTO, C.; EDUARDO, F.P.; MULLER, K.P.; CARRIERI, T.; HAYPEK, P.; EDUARDO, C.P. Low-energy laser therapy in oral mucositis. **J. Oral Laser Applications**, London, v. 1, n. 2, p. 97-101, 2001.
- 54 MORVAN, F.O.; BAROUKH, D.L.; CARUELLE, D.B.; GODEAU, G.; SAFFAR, J.L. An engineered biopolymer prevents mucositis

- induced by 5-Fluorouracil in hamsters. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia, v.164, n. 2, p. 739-746, Feb. 2004.
- 55 NOMURA, K.; YAMAGUCHI, M.; ABIKO, Y. Inhibition of interleukin-1beta production and gene expression in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation. **Lasers Med. Sci.**, London, v.16, n. 3, p. 218-223. 2001.
- 56 OLFERT, E.D.; CROSS, B.M.; McWILLIAM, A.A. (Ed.). **Guide to the care and use of experimental animals**. 2nd ed. 1993. v. 1. Disponível em : < <http://www.ccac.ca> >. Acesso em: 6 jan. 2005, 8:45:40.
- 57 PARULEKAR W.; MACKENZIE, R.; BJARNASON, G.; JORDAN, R.C. Scoring oral mucositis. **Oral Oncol.**, Oxford, v. 34, n.15, p. 63-71. 1998.
- 58 PEREIRA, A.N.; EDUARDO, C.P.; MATSON, E.; MARQUE, M.M. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 31, n.4, p. 263-267, Oct. 2002.
- 59 POURREAU-SCHNEIDER, N.; SOUDRY, M.; REMUSAT, M.; FRANQUIN, J.C.; MARTIN, P.M. Modifications of growth dynamics and ultrastructure after helium-neon laser treatment of human gingival fibroblasts. **Quintessence Int.**, Berlin, v. 20, n. 12. p. 887-893. 1989.
- 60 POURREAU-SCHNEIDER, N.; SOUDRY, M.; FRANQUIN, J.C.; ZATTARA, H.; MARTIN, P.M.; CIAIS, G.; NAMER, M.; SCHNEIDER, M.; CHAUVEL, P.; DEMARD, F. Soft laser therapy for iatrogenic mucositis in cancer patients receiving high-dose fluorouracil: a preliminar report. **J. Nat .Cancer Inst.**, Cary, v. 84, n. 5, p.358-359. Mar. 1992.

- 61 REDDY, G.K.; STEHNO-BITTEL, L.; ENWEMEKA, C.S. laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achilles tendons. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 22, n. 5, p. 281-287, Dec. 1998.
- 62 ROCHKIND, S.; ROUSSO, M.; NISSAN, M.; VILLARREAL, M.; BARR-NEA, L.; REES, D.G. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.9, p. 174-182.1989.
- 63 RUTKAUSKAS, J.; DAVIS, J.W. Effects of chlorexidine during immunosuppressive chemotherapy. A preliminary report. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v. 74, n. 4, p. 441-448, Oct.1993.
- 64 SAKURAI,Y.; YAMAGUCHI, M.; ABIKO, Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v. 108, n. 1, p. 29-34, Feb. 2000.
- 65 SANDOVAL, R.L.; KOGA, D.H.; BULOTO, L.S.; SUZUKI, R.; DIB, L.L. Management of chemo- and radiotherapy induced oral mucositis with low-energy laser: inicial results of A.C. Camargo Hospital. **J. Appl. Oral Sci.**, Bauru, v.11, n. 4, p. 337-341, Oct./Dec. 2003.
- 66 SCHLAGER, A.; OEHLER, K.; HUEBNER, K.U.; SCHMUTH, M.; SPOETL, L. Healing of burns after treatment with 670- nanometer low-power laser light. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.105, n. 5, p.1635-1639, Apr. 2000.
- 67 SHIMIZU, N.; YAMAGUCHI, M.; GOSEKI, T.; SHIBATA, Y.; TAKIGUCHI, H.; IWASAWA, T.; ABIKO, Y. Inhibition of prostaglandin E2 and interleukin 1-beta production by low-power

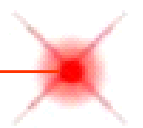
- laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells **J. Dent. Res.**, Chicago, v.74, n.7, p.1382-1388, July. 1995.
- 68 SONIS, S.T. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. **Oral Oncol. Eur. J. Cancer.**, Oxford ,v. 34, p. 39-43, 1998.
- 69 SONIS, S.T.; TRACEY, C.; SHKLAR, G.; JENSON, J.; FLORINE, D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** St. Louis, v. 69, n.4, p.437-443, Apr. 1990.
- 70 SONIS, S.T.; COSTA Jr, J.W.; EVITTS, S.M.; LINDQUIST, L.E.; NICOLSON, M. Effect of epidermal growth factor on ulcerative mucositis in hamsters that receive cancer chemotherapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v.74, n.6, p. 749-55, Dec. 1992.
- 71 SONIS, S.; KOPLOWSKY, A.; MITUS, J.; ROSENTHAL, D.; BRAND, M. Relationship of chemotherapy-induced mucositis and myelosuppression in hamsters. **Eur. J. Cancer B. Oral Oncol.**, Oxford, v. 28B, n.1, p.43, July. 1992.
- 72 SONIS, S.T.; LINDQUIST, L.; VAN VUGT, A.; STEWART, A.A.; STAM, K.; QU, G.Y. Prevention of chemotherapy-induced ulcerative mucositis by transforming growth factor beta 3. **Cancer Res.**, Chicago, v.54, n.5, p. 1135-1138, Mar.1994.
- 73 SONIS, S.T.; COSTELLO, K.A. A database for mucositis induced by cancer chemotherapy. **Oral Oncol. Eur. J. Cancer**, Oxford, v.31B, p. 258-260,1995.
- 74 SONIS, S.T.; MUSKA, A.; O'BRIEN, J.; VAN VUGT, A.; LANGER-SAFER, P.; KEITH, J. Alteration in the frequency, severity and duration of chemotherapy-induced mucositis in hamsters by

- interleukin-11. **Oral Oncol. Eur. J. Cancer**, Chicago, v.31B, n. 4, p. 261-266, 1995.
- 75 SONIS, S.T.; VAN VUGT, A.G.; MCDONALD, J.; DOTOLI, E.; SCHWERTSCHLAG, U.; SZKLUT, P. Mitigating effects of interleukin 11 on consecutives courses of 5-fluorouracil – induced ulcerative mucositis in hamsters. **Cytokine**, San Diego, v.9, n.8, p.605-612, Aug.1997.
- 76 SONIS, S.T.; VAN VUGT, A.G.; BRIEN, J.P.O.; MUSKA, A.D.; BRUSKIN, A.M.; ROSE, A. Transforming growth factor beta 3 mediated modulation of cell cycling and attenuation of 5-fluorouracil induced oral mucositis. **Oral Oncol.**, Oxford, v.3, n.1, p. 47-54, Jan.1997.
- 77 SONIS, S.T.; EILERS, J.P.; EPSTEIN, J.B.; LEVEQUE, F.G.; LIGGETT, W.H. Jr; MULAGHA, M.T.; PETERSON, D.E.; ROSE, A.H.; SCHUBERT, M.M.; SPIJKERVET, F.K.; WITTES, J.P. Validation of a new scoring system for the assessment of clinical trial research of oral mucositis induced by radiation or chemotherapy. **Am. Cancer Soc.**, New York, v.85, n.10, p. 2103-2113, May.1999.
- 78 SONIS, S.T.; PETERSON, R.L.; EDWARDS, L.J.; LUCEY, C.A.; WANG, L.; MASON, L.; LOGIN, G.; YMAMKAWA, M.; MOSES, G.; BOUCHARD, P.; HAYES, L.L.; BEDROSIAN, C.; DORNER, A.J. Defining mechanisms of action of interleukin-11 on the progression of radiation-induced oral mucositis in hamsters. **Oral Oncol.**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 373-381, July. 2000.
- 79 SONIS, S.T.; SCHERER, J.; PHELAN, S.; LUCEY, C.A.; BARRON, J.E.; O'DONNELL, K.E.; BRENNAN, R.J.; PAN, H.; BUSSE, P.; HALEY, J.D. The gene expression sequence of

- radiated mucosa in an animal mucositis model. **Cell Prolif.**, Oxford, v.35, suppl.1, p. 93-102, 2002.
- 80 SONIS, S.T.; O'DONNELL, K.E.; POPAT, R.; BRAGDON, C.; PHELAN, S.; COCKS, D.; EPSTEIN, J.B. The relationship between mucosal cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and experimental radiation-induced mucositis. **Oral Oncol.**, Oxford, v.40, n.2, p. 170-176, Feb. 2004.
- 81 SPIELBERGER, R.; STIFF, P.; BENSINGER, W.; GENTILE, T.; WEISDORF, D.; KEWALRAMANI, T.; SHEA, T.; YANOVICH, S.; HANSEN, K.; NOGA, S.; MCCARTY, J.; LEMAISTRE, C.F.; SUNG, E.C.; BLAZAR, B.R.; ELHARDT, D.; CHEN, M.G.; EMMANOUILIDES, C. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 351, n. 25, p. 2590-2598. Dec. 2004.
- 82 SPIJKERVET, F.K.L.; SONIS, S.T. New frontiers in the management of chemotherapy-induced mucositis. **Current Opinion in Oncology**, Philadelphia, v.10, suppl 1, p. S23 – S27,1998.
- 83 SQUIER, C.A.; KREMER, M.J. Biology of oral mucosa and esophagus. **J. Natl. Cancer Inst. Monogr.**, Bethesda, n.29, p.7-15. 2001.
- 84 TAM, G. Low power laser therapy and analgesic action. **J Clin Lasers Med Surg.**, New York, v.17, n. 1, p. 29-33. 1999.
- 85 TARDIEU, C.; COWEN, D.; THIRION, X.; FRANQUIN, J.C. Quantitative scale of oral mucositis associated with autologous bone marrow transplantation. **Oral Oncol. Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 32B, n. 6, p. 381-387,1996.
- 86 TATARUNAS, A.C.; MATERA, J.M.; DAGLI, M.L.Z. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico.

- Utilização do laser de baixa potência GaAs (904nm). **Acta Cir. Bras.** São Paulo, v.13, n. 2, p. 86-93, Apr./May/June.1998.
- 87 TROTTI, A.; BELLM, L.A.; EPSTEIN, J.B.; FRAME, D.; FUCHS, H.J.; GWEDE, C.K.; KOMAROFF, E.; NALYSNYK, L.; ZILBERBERG, M.D. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. **Radiother. Oncol.** Amsterdam, v.66, n. 3, p.253-262, Mar. 2003.
- 88 TUCKER, J.M.; DAVIS, C.; KITCHENS, M.E.; BUNNI, M.A.; PRIEST, D.G.; SPENCER, H.T.; BERGER, F.G. Response to 5-fluorouracil chemotherapy is modified by dietary folic acid deficiency in Apc Min/+ mice. **Cancer Letters**, Amsterdam, v.187, p.153, Dec. 2002.
- 89 VAN HAMME, A.S.; MALEVEZ, C.; FERSTER, A.; ABBEELE, A.V. Evaluation of HENE laser therapy in prevention and healing of chemotherapy induced oral mucositis lesion in children. **Int. J. Paed. Dent.**, Oxford, v.13, suppl. 1, p. 33, Dec. 2003. Abstract.
- 90 WIJERS, O.B.; LEVENDAG, P.C.; HARMS, E.R.; GAN-TENG, A.M.; SCHMITZ, P.I.; HENDRIKS, W.D.; WILIMS, E.B.; VAN DER EST, H.; VISCH, L.L. Mucositis reduction by selective elimination of oral flora in irradiated cancers of the head and neck: placebo-controlled double-blind randomized study. **Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.**, Elmsford, v. 50, n. 2, p. 343-352, June. 2001.
- 91 WOO, S.B.; SONIS, S.T.; MONOPOLI, M.M.; SONIS, A.L. A longitudinal study of oral ulcerative mucositis in bone marrow transplant recipients. **Cancer**, New York, v. 72, n. 5, p. 1612-1617, Sept. 1993.

Anexo





| Amostra | Grau de mucosite (Grupo I) |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
|---------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-----|------|------|------|-----|-----|-----|--|
|         | Dia                        |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
|         | 4                          | 5     | 6     | 7     | 8     | 9   | 10   | 11   | 12   | 13  | 14  | 15  |  |
| 1       | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 2       | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 3       | 1                          | 1     | 1     | 0     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 4       | 1                          | 0     | 0     | 0     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 5       | 1                          | 1     | 0     | 0     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 6       | 1                          | 2     | 2     | 2     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 7       | 0                          | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 8       | 1                          | 1     | 1     | 1     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 9       | 1                          | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 3    | 3    | 3    | 2   | 1   | 1   |  |
| 10      | 1                          | 1     | 0     | 0     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 11      | 2                          | 2     | 1     | 1     | 2     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 12      | 1                          | 2     | 2     | 2     | 2     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 13      | 2                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 14      | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 15      | 1                          | 2     | 2     |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 16      | 1                          | 2     | 1     |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 17      | 1                          | 1     |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 18      | 2                          | 2     |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 19      | 2                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 20      | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 21      | 1                          | 1     | 0     |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 22      | 2                          | 1     | 1     |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 23      | 2                          | 1     | 1     | 1     |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 24      | 2                          | 1     | 0     | 0     |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 25      | 2                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 26      | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 27      | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 28      | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 29      | 1                          | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 30      | 1                          | 1     | 2     | 2     | 1     | 1   | 1    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 31      | 1                          | 2     | 1     | 1     | 1     | 1   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 32      | 1                          | 1     | 1     | 1     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 33      | 1                          | 1     | 0     | 0     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 34      | 0                          | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 35      | 1                          | 2     | 1     | 1     | 1     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 36      | 0                          | 1     | 2     | 2     | 2     | 1   | 1    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 37      | 1                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 38      | 0                          |       |       |       |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 39      | 2                          | 1     | 1     | 1     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 40      | 0                          | 0     | 0     | 0     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 41      | 0                          | 1     | 1     | 1     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 42      | 1                          | 3     | 3     | 3     | 2     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 43      | 2                          | 2     | 2     | 1     |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 44      | 0                          | 0     | 0     | 0     |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 45      | 1                          | 1     | 1     | 1     | 1     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 46      | 1                          | 1     | 0     | 0     | 0     |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 47      | 2                          | 2     | 2     | 2     | 2     | 1   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 48      | 0                          | 1     | 1     | 0     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 49      | 1                          | 2     | 2     | 2     | 1     | 1   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 50      | 1                          | 1     | 0     | 0     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    |     |     |     |  |
| 51      | 0                          | 1     | 1     | 1     | 1     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 52      | 0                          | 1     | 1     | 1     | 0     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 53      | 2                          | 2     | 2     | 2     | 1     | 1   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 54      | 1                          | 1     | 1     | 1     | 1     | 0   | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   |  |
| 55      | 1                          | 2     | 1     | 1     |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| 56      | 1                          | 1     | 1     | 0     |       |     |      |      |      |     |     |     |  |
| Média   | 1,036                      | 1,227 | 0,976 | 0,868 | 0,625 | 0,4 | 0,25 | 0,15 | 0,15 | 0,2 | 0,1 | 0,1 |  |

Anexo 2 – Dados referentes à classificação clínica da mucosite induzida no Grupo I

| Amostra | Grau de mucosite (Grupo II) |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
|---------|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-----|------|---|
|         | Dia                         |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
|         | 4                           | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     | 13    | 14  | 15   |   |
| 1       | 1                           | 2      | 2      | 3      | 3      | 4      | 4      | 5      | 5      |       |     |      |   |
| 2       | 1                           | 1      | 2      | 2      | 2      | 1      | 1      | 1      | 1      |       |     |      |   |
| 3       | 1                           | 2      | 3      | 3      | 4      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 4       | 1                           | 2      | 2      | 2      | 3      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 5       | 1                           | 1      | 2      |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 6       | 0                           | 1      | 2      |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 7       | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 8       | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 9       | 2                           | 2      | 2      | 2      | 3      | 5      | 5      |        |        |       |     |      |   |
| 10      | 1                           | 1      | 2      | 2      | 3      | 4      | 4      |        |        |       |     |      |   |
| 11      | 2                           | 2      | 2      | 1      | 1      | 1      | 1      | 1      | 0      | 0     | 0   | 0    | 0 |
| 12      | 2                           | 2      | 2      | 2      | 2      | 2      | 2      | 1      | 0      | 0     | 0   | 0    | 0 |
| 13      | 2                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 14      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 15      | 2                           | 2      | 2      | 1      | 1      | 1      | 1      | 0      | 1      | 1     | 1   | 0    | 0 |
| 16      | 1                           | 2      | 2      | 3      | 2      | 3      | 3      | 3      | 2      | 2     | 1   | 0    | 0 |
| 17      | 1                           | 1      | 2      | 2      | 2      | 3      | 3      | 3      | 3      |       |     |      |   |
| 18      | 1                           | 2      | 2      | 2      | 2      | 2      | 3      | 3      | 2      |       |     |      |   |
| 19      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 20      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 21      | 1                           | 2      | 2      | 3      | 4      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 22      | 1                           | 3      | 3      | 3      | 5      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 23      | 2                           | 3      | 3      | 3      | 4      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 24      | 1                           | 2      | 3      | 3      | 3      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 25      | 1                           | 1      | 1      | 2      | 3      | 3      | 4      | 5      | 5      |       |     |      |   |
| 26      | 1                           | 2      | 2      | 2      | 2      | 3      | 3      | 5      | 5      |       |     |      |   |
| 27      | 1                           | 1      | 1      | 2      | 2      | 2      | 3      |        |        |       |     |      |   |
| 28      | 1                           | 1      | 2      | 2      | 1      | 1      | 1      |        |        |       |     |      |   |
| 29      | 1                           | 2      | 2      | 3      | 3      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 30      | 0                           | 1      | 1      | 1      | 2      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 31      | 0                           | 1      | 2      | 2      | 2      | 2      | 3      | 3      | 3      |       |     |      |   |
| 32      | 0                           | 1      | 1      | 1      | 1      | 1      | 3      | 4      | 4      |       |     |      |   |
| 33      | 1                           | 2      | 2      | 2      | 2      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 34      | 1                           | 1      | 1      | 1      | 2      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 35      | 1                           | 1      | 1      | 1      | 2      | 2      | 2      | 1      | 1      | 0     | 0   | 0    | 0 |
| 36      | 1                           | 2      | 2      | 2      | 2      | 2      | 1      | 1      | 0      | 0     | 0   | 0    | 0 |
| 37      | 1                           | 1      | 1      | 2      | 3      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 38      | 1                           | 2      | 3      | 3      | 4      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 39      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 40      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 41      | 0                           | 1      | 1      | 1      | 2      | 3      | 3      | 3      | 3      |       |     |      |   |
| 42      | 0                           | 1      | 2      | 3      | 3      | 2      | 4      | 4      | 4      |       |     |      |   |
| 43      | 1                           | 2      | 2      | 2      | 2      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 44      | 1                           | 1      | 1      | 2      | 2      |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 45      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 46      | 2                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 47      | 0                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 48      | 1                           |        |        |        |        |        |        |        |        |       |     |      |   |
| 49      | 1                           | 1      | 1      | 1      | 1      | 3      | 3      | 2      | 2      | 2     | 1   | 1    | 1 |
| 50      | 0                           | 0      | 1      | 1      | 1      | 3      | 3      | 2      | 2      | 2     | 1   | 1    | 1 |
| Média   | 0,98                        | 1,5263 | 1,8421 | 2,0278 | 2,3889 | 2,4091 | 2,7273 | 2,6111 | 2,3889 | 0,875 | 0,5 | 0,25 |   |

Anexo 3 – Dados referentes à classificação clínica da mucosite induzida no Grupo II

*G1 - Laser*

| Grau de inflamação tecidual |       |    |       |    |       |    |        |    |        |
|-----------------------------|-------|----|-------|----|-------|----|--------|----|--------|
| n                           | dia 0 | n  | dia 4 | n  | dia 8 | n  | dia 12 | n  | dia 15 |
| 1                           | 0     | 1  | 1     | 1  | 0     | 1  | 1      | 1  | 0      |
| 2                           | 0     | 2  | 1     | 2  | 0     | 2  | 1      | 2  | 1      |
| 3                           | 0     | 3  | 1     | 3  | 1     | 3  | 0      | 3  | 0      |
| 4                           | 0     | 4  | 1     | 4  | 0     | 4  | 0      | 4  | 1      |
| 5                           | 0     | 5  | 0     | 5  | 0     | 5  | 0      | 5  | 0      |
| 6                           | 0     | 6  | 0     | 6  | 0     | 6  | 1      | 6  | 0      |
| 7                           | 0     | 7  | 1     | 7  | 1     | 7  | 0      | 7  | 0      |
| 8                           | 0     | 8  | 1     | 8  | 1     | 8  | 0      | 8  | 0      |
| 9                           | 0     | 9  | 1     | 9  | 1     | 9  | 1      | 9  | 1      |
| 10                          | 0     | 10 | 1     | 10 | 0     | 10 | 0      | 10 | 0      |
| 11                          | 0     | 11 | 1     | 11 | 0     | 11 |        | 11 |        |
| 12                          | 0     | 12 | 1     | 12 | 0     | 12 |        | 12 |        |

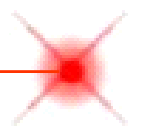
Anexo 4 – Dados referentes à classificação histopatológica da mucosite induzida no Grupo I

*G2 - controle positivo*

| Grau de inflamação tecidual |       |    |       |    |       |    |        |    |        |
|-----------------------------|-------|----|-------|----|-------|----|--------|----|--------|
| n                           | dia 0 | n  | dia 4 | n  | dia 8 | n  | dia 12 | n  | dia 15 |
| 1                           | 0     | 1  | 2     | 1  | 0     | 1  | 1      | 1  | 0      |
| 2                           | 0     | 2  | 1     | 2  | 2     | 2  | 4      | 2  | 0      |
| 3                           | 0     | 3  | 0     | 3  | 3     | 3  | 4      | 3  | 0      |
| 4                           | 0     | 4  | 2     | 4  | 4     | 4  | 4      | 4  | 1      |
| 5                           | 0     | 5  | 1     | 5  | 1     | 5  | 4      | 5  | 0      |
| 6                           | 0     | 6  | 0     | 6  | 1     | 6  | 1      | 6  | 0      |
| 7                           | 0     | 7  | 1     | 7  | 3     | 7  | 1      | 7  |        |
| 8                           | 0     | 8  | 1     | 8  | 3     | 8  | 1      | 8  |        |
| 9                           | 0     | 9  | 1     | 9  | 2     | 9  |        | 9  |        |
| 10                          | 0     | 10 | 2     | 10 | 3     | 10 |        | 10 |        |
| 11                          | 0     | 11 | 1     | 11 | 1     | 11 |        | 11 |        |
| 12                          | 0     | 12 | 2     | 12 | 3     | 12 |        | 12 |        |

Anexo 5 – Dados referentes à classificação histopatológica da mucosite induzida no Grupo II

Resumo

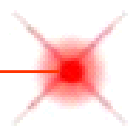


FERRARI, J.C.L. Efeito do laser terapêutico na mucosite induzida por 5-fluoruracila (5-FU) em hamsters. Araraquara, 2005, 138p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

A cavidade oral é alvo freqüente dos efeitos tóxicos dos agentes antineoplásicos por apresentar tecidos com rápida divisão celular, comparável à dos tumores malignos. Uma das complicações orais mais freqüentes da quimioterapia é a mucosite, uma alteração de caráter inflamatório para a qual ainda não existe tratamento definido. Essa complicação oral provoca desconforto e dor severa, dificulta a alimentação e pode determinar a interrupção do tratamento antineoplásico. Considerando-se a relevância clínica da mucosite, é importante encontrar meios para tratá-la. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do laser terapêutico na redução da incidência e da severidade da mucosite induzida em hamsters. O quimioterápico 5-FU foi aplicado em 60 animais nos dias 0 e 2 do experimento, nas doses de 90 e 60 mL/Kg de peso, respectivamente. Para simular o efeito de uma irritação crônica, as mucosas jugais dos animais foram escarificadas nos dias 3 e 4. Aplicou-se o laser terapêutico (InGaAlP, 683 nm, 12 J/cm<sup>2</sup>) em 5 pontos da mucosa jugal direita e esquerda de 30 animais (Grupo I), durante 7 dias. Os animais do Grupo II não receberam tratamento. O Grupo III (controle negativo) foi composto por 5 animais que não receberam o protocolo de indução de mucosite. Nos dias 0, 4, 8, 12 e 15 do experimento, as mucosas de 6 animais dos Grupos I e II foram removidas para avaliação histopatológica. A partir de fotografias tiradas diariamente, a mucosite foi classificada clinicamente. O teste de Mann-Whitney demonstrou haver diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) entre o grupo tratado com laser e o grupo não tratado quando se comparou, clínica e histopatologicamente, a intensidade da mucosite induzida. Concluiu-se que a aplicação do laser de baixa intensidade, nos parâmetros determinados para este estudo, promoveu a redução da severidade da mucosite oral e acelerou a cura das lesões, embora não tenha prevenido o surgimento das mesmas.

Palavras-chave: Terapia a laser de baixa intensidade; mucosa bucal; fluoruracila; hamsters; neoplasias, laser terapêutico.

Abstract



FERRARI, J.C.L. Laser therapy effects on mucositis induced by 5-fluorouracil (5-FU) in hamsters. Araraquara, 2005, 138p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Toxic and dose-limiting effects of antineoplastic agents in oral cavity are frequently observed during cancer therapy. The available therapies are not able to destroy tumor cells without causing damage to the rapid dividing cells in normal tissues like the epithelial cells in the oral mucosa. Mucositis is the most debilitating side effect, for which there is no established treatment. This oral complication restricts intake of food and liquids, causes discomfort, severe pain and may determine interruption of the cancer therapy, interfering on the disease control. Considering the clinical significance of mucositis, it is important to find ways to treat this condition. The present study was conducted to evaluate the laser therapy effects on prevention or reduction of chemotherapy-induced mucositis in hamsters. Mucositis was induced in 60 animals with intraperitoneal injections of 5-fluorouracil (5-FU) on days 0 and 2, associated with cheek pouches scarification on days 3 and 4. Thirty animals (Group I) received laser irradiation at five points in each cheek pouch, for seven consecutive days. Laser parameters were set to 685 nm, 12 J/cm<sup>2</sup> and 30 mW. Other 30 animals (Group II) received no treatment. In Group III, 5 animals represented the baseline control. The cheek pouches of 6 animals from Groups I and II were dissected for histopathological examination on days 0, 4, 8, 12, and 15. Daily photographs were taken and mucositis was clinically scored. The nonparametric test of Mann-Whitney showed statistical difference between treated and nontreated group ( $p < 0.05$ ). It was concluded that the low intensity laser therapy protocol established for this study reduced the severity of oral mucositis and accelerated the healing process, although it has not prevented the appearance of oral manifestations.

Keywords: Laser therapy; oral mucosa; fluorouracil; hamsters; neoplasms.